

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Stanovení lisovatelnosti kyseliny askorbové testem
stresové relaxace a záznamem síla-dráha**

*Determination of the compressibility of ascorbic acid using stress
relaxation test and force-displacement record*

HRADEC KRÁLOVÉ, 2015

Ivana Ledvinová

Tímto bych chtěla poděkovat Doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové Ph.D. za vedení mé diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Petře Svačinové za pomoc při vypracování mé práce a paní Lence Svobodové za pomoc při experimentální části. Děkuji také své rodině za podporu při studiu.

"Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu."

V Hradci Králové

Ivana Ledvinová

OBSAH

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | ABSTRAKT | 6 |
| 2 | ABSTRACT..... | 7 |
| 3 | ZADÁNÍ..... | 8 |
| 4 | ÚVOD..... | 9 |
| 5 | TEORETICKÁ ČÁST..... | 10 |
| 5.1 | KYSELINA ASKORBOVÁ | 10 |
| 5.1.1 | <i>Syntéza kyseliny askorbové.....</i> | <i>11</i> |
| 5.1.2 | <i>Stabilita a rozklad kyseliny askorbové</i> | <i>13</i> |
| 5.1.3 | <i>Lékové formy s kyselinou askorbovou</i> | <i>14</i> |
| 5.1.3.1 | Pevné lékové formy | 14 |
| 5.1.3.2 | Tekuté lékové formy..... | 16 |
| 5.1.4 | <i>Farmakologické účinky kyseliny askorbové</i> | <i>17</i> |
| 5.2 | DIFERENCIÁLNÍ SKENOVAČÍ KALORIMETRIE | 21 |
| 5.2.1 | <i>Charakteristika metody DSC.....</i> | <i>21</i> |
| 5.2.2 | <i>Hodnocení kyseliny askorbové metodami termické analýzy.....</i> | <i>23</i> |
| 6 | EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST..... | 28 |
| 6.1 | POUŽITÉ SUROVINY | 28 |
| 6.2 | POUŽITÉ PŘÍSTROJE..... | 28 |
| 6.3 | POUŽITÉ METODY | 29 |
| 6.3.1 | <i>Stanovení parametrů testu stresové relaxace</i> | <i>29</i> |
| 6.3.2 | <i>Stanovení energetických parametrů ze záznamu síla-dráha</i> | <i>31</i> |
| 6.3.3 | <i>DSC hodnocení kyseliny askorbové.....</i> | <i>33</i> |
| 6.3.4 | <i>Použitá statistická metoda</i> | <i>35</i> |
| 7 | VÝSLEDKY | 36 |
| 7.1 | VYSVĚTLIVKY K TABULKÁM A GRAFŮM..... | 36 |
| 7.2 | TABULKY..... | 37 |
| 7.3 | GRAFY | 40 |
| 7.4 | PROTOKOLY..... | 45 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 8 | DISKUSE..... | 58 |
| 8.1 | HODNOCENÍ PARAMETRŮ TESTU STRESOVÉ RELAXACE | 58 |
| 8.2 | HODNOCENÍ PARAMETRŮ METODY SÍLA – DRÁHA | 58 |
| 8.3 | HODNOCENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ METODOU DSC | 59 |
| 9 | ZÁVĚRY | 61 |
| 9.1 | HODNOCENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ TESTEM STRESOVÉ RELAXACE | 61 |
| 9.2 | HODNOCENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ ZE ZÁZNAMU SÍLA-DRÁHA | 61 |
| 9.3 | HODNOCENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ METODOU DSC | 61 |
| 10 | POUŽITÁ LITERATURA | 62 |

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutická technologie

Školitel: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová Ph.D.

Posluchač: Ivana Ledvinová

Název diplomové práce: Stanovení lisovatelnosti kyseliny askorbové testem stresové relaxace a záznamem síla-dráha

Tato diplomová práce se zabývá stanovením lisovatelnosti kyseliny askorbové. Pro popis lisovacího procesu byl použit záznam síla-dráha a test stresové relaxace. Na základě parametrů získaných z těchto dvou metod jsou hodnoceny také viskoelastické vlastnosti kyseliny askorbové. Dále se hodnotila stabilita kyseliny askorbové během lisovacího procesu. Pro toto hodnocení byla použita metoda diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC).

Tablety pro hodnocení záznamem síla-dráha byly lisovány lisovacími silami 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 a 40 kN. Pro test stresové relaxace byly zvoleny lisovací síly 5, 10 a 15 kN. Tablety, získané během lisování metodou síla-dráha, byly použity jako vzorky pro metodu DSC. Účelem měření bylo zjištění případné změny struktury kyseliny askorbové způsobené lisováním různými silami. Ze získaných hodnot můžeme říci, že ke strukturálním změnám ani k rozkladu kyseliny askorbové nedochází. S rostoucí lisovací silou se zvyšují hodnoty elastického působení částic a následně plasticity u testu stresové relaxace a také hodnoty parametrů ze záznamu síla-dráha.

2 ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Pharmaceutical Technology

Consultant: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová Ph.D.

Student: Ivana Ledvinová

Title of Thesis: Determination of the compressibility of ascorbic acid using stress relaxation test and force-displacement rekord

This thesis deals with the determination of compressibility of ascorbic acid. Test force-displacement record and stress relaxation test were used for a description of the compression process. Viscoelastic properties of ascorbic acid are evaluated based on parameters obtained from these two methods. Stability of ascorbic acid during compression process was also evaluated. The method of differential scanning calorimetry (DSC) was used for this evaluation.

The tablets for force-displacement record were compressed by maximal compression forces of 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, and 40 kN. For the stress relaxation test were compression forces of 5, 10 and 15 kN. The tablets compressed using force-displacement record were used as samples for DSC method. The purpose of the measurement was to determine possible changes in the structure of ascorbic acid caused by different compression forces. From the obtained values can be concluded that structural changes or decomposition of ascorbic acid does not occur. With increasing compression force the values of the elastic interactions among particles and subsequent plasticity of stress relaxation test are increased. The parameters from force-displacement record are also increased.

3 ZADÁNÍ

Cílem diplomové práce je charakterizovat kyselinu askorbovou, podat přehled o lékových formách a léčivých přípravcích obsahujících tuto kyselinu a stručně popsat její využití a účinky. Dále potom popsat diferenciální skenovací kalorimetrii (DSC) a využití této metody při sledování stability kyseliny askorbové.

V experimentální části je úkolem charakterizovat kyselinu askorbovou z hlediska lisovatelnosti a viskoelastických vlastností za využití záznamu síla-dráha a testu stresové relaxace a dále pomocí diferenční skenovací kalorimetrie zjistit, zda během lisovacího procesu nedošlo ke změně struktury léčivé látky.

Zadání pro experimentální část:

- Lisování tablet metodou síla-dráha
- Lisování tablet pomocí testu stresové relaxace
- Měření stability pomocí DSC
- Zpracování výsledků do tabulek a grafů

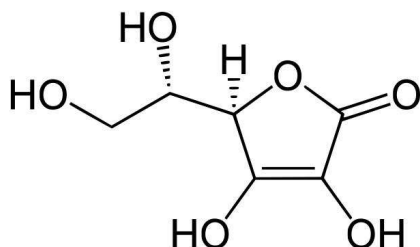
4 ÚVOD

Kyselina askorbová patří mezi vitamíny rozpustné ve vodě. Její název je odvozen od slova skorbut = kurděje, což je nemoc, kterou nedostatek kyseliny askorbové způsobuje. Kyselina askorbová je přírodní vitamin a antioxidant. Znaměřším označením této látky je Vitamin C. Má široké využití, např. ve farmacii, potravinářském průmyslu a v kosmetických přípravcích.¹ Nejběžnější lékovou formou obsahující kyselinu askorbovou jsou tablety. Ty se vyrábí lisováním tabletoviny v tabletovacím lisu. Během tohoto procesu je tabletovina obsahující kyselinou askorbovou vystavena vysokému lisovacímu tlaku a současně i vyšší teplotě. Vlivem těchto podmínek může dojít k rozkladu léčivé látky nebo ke změně krystalické struktury. Pro sledování fyzikálních a chemických vlastností vzorku je možné využít metody termické analýzy. Jednou z nich je také diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC). Výhodou této metody je malé množství vzorku. I přesto se jedná o přesnou metodu užívanou v různých oblastech lidské činnosti.

5 TEORETICKÁ ČÁST

5.1 Kyselina askorbová

Kyselina askorbová (2,3-endiol γ -lakton kyseliny 2-oxo-L-gulonové, Vitamin C) je bílá nebo bezbarvá krystalická látka rozpustná ve vodě a v 96 % etanolu, která taje při teplotě cca 190 °C. ² Kyselina askorbová je přírodní látka, která je obsažena v rostlinných a živočišných orgánech. Z rostlinných zdrojů je na vitamin C bohatý šípek, rakytník, citrusové plody, černý rybíz, zelí, brokolice a další. Z živočišných orgánů obsahují vitamin C především játra. ¹



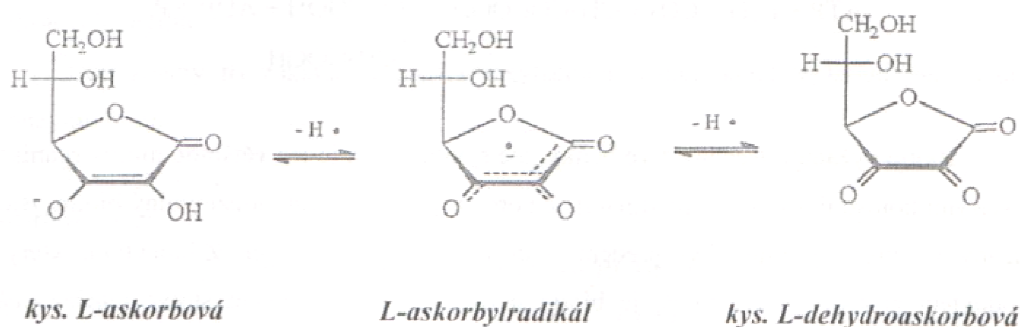
Obrázek 1: Vzorec kyseliny askorbové ¹

Kyselina askorbová se účastní v lidském organismu mnoha biochemických procesů. Napomáhá tvorbě kolagenu, syntéze hormonů, spalování tuků atd. Spolu s vitamíny A a E se řadí mezi antioxidanty, které chrání naše buňky před volnými radikály. ³

Pro své antioxidační vlastnosti se často používá v potravinářském průmyslu jako konzervační činidlo, například při výrobě džusů, kompotů atd., nebo při výrobě uzenin. Při výrobě piva a vína je kyselina askorbová prostředkem proti vzniku zákalu. ⁴

Kyselina askorbová je častou složkou kosmetických přípravků, převážně krémů, jelikož podporuje tvorbu kolagenu a tím pomáhá k udržení pevnosti pleti. Dalším účinkem je ochrana pleti před poškozením volnými radikály, které vznikají působením UV záření. ⁵

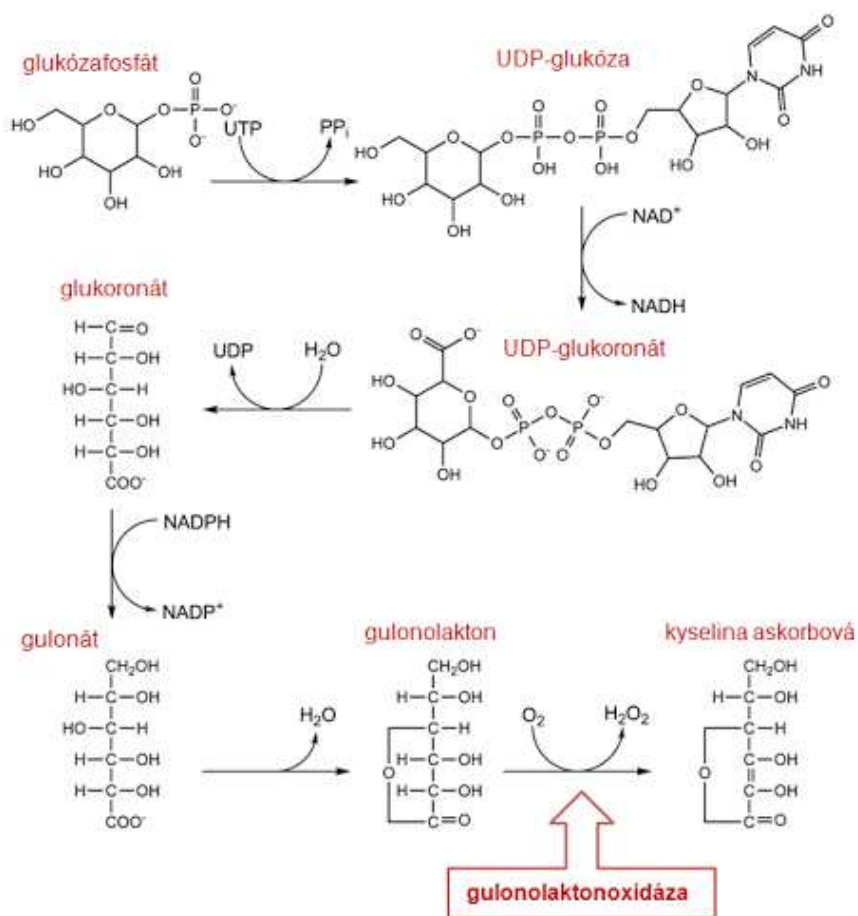
Názvem vitamin C se označuje kyselina L-askorbová, L-ascorbylradikál a kyselina L-dehydroaskorbová. ⁶



Obrázek 2: Formy kyseliny askorbové ⁶

5.1.1 Syntéza kyseliny askorbové

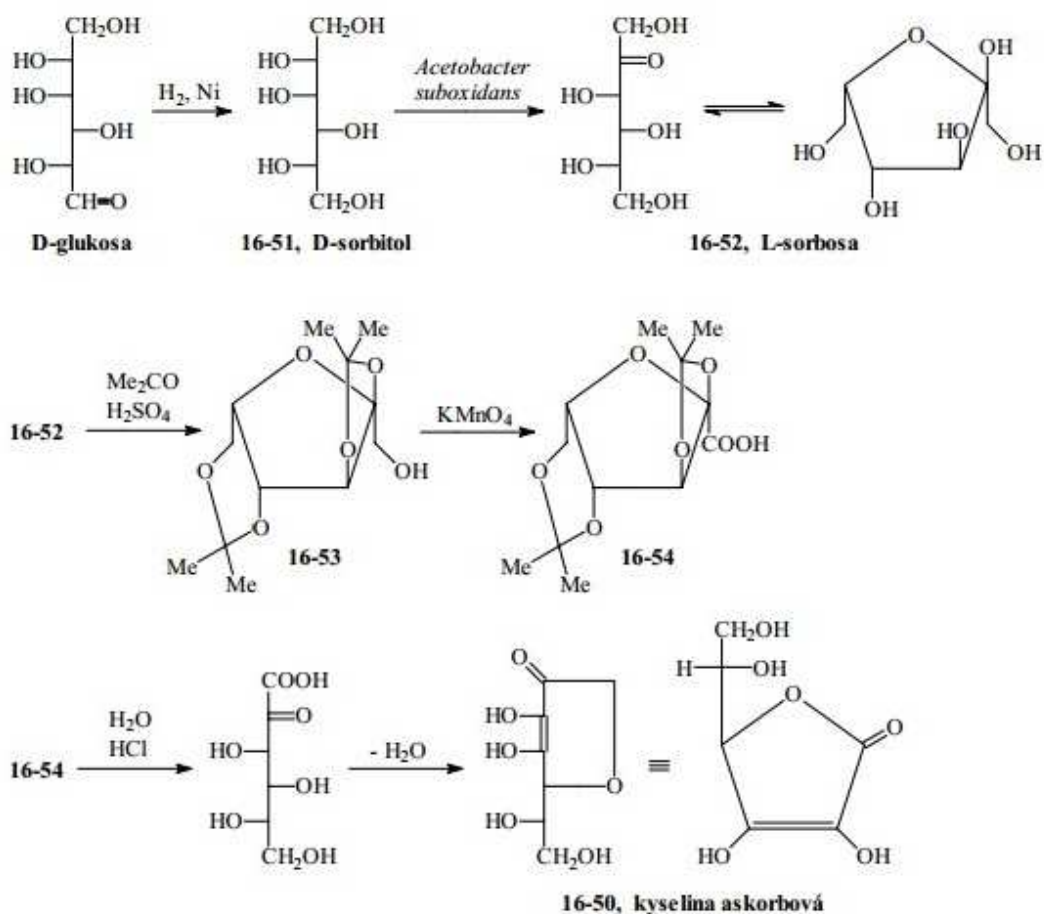
Syntéza kyseliny askorbové probíhá v mnoha živých organismech. Například u živočichů probíhá syntéza z glukozafosfátu přes UDP-glukuronát po gulonolakton. Nejdůležitějším krokem syntézy je přeměna gulonolaktonu na kyselinu askorbovou prostřednictvím enzymu gulonolaktonoxidázy. ^{7, 8}



Obrázek 3: Biosyntéza kyseliny askorbové u obratlovců ⁸

Primáti, ptáci, morčata nejsou schopni kvůli chybějícímu enzymu gulonolaktonoxidázy si kyselinu askorbovou syntetizovat sami. Proto je pro nás kyselina askorbová vitamínem a musíme ji přijímat potravou případně dodávat prostřednictvím chemicky vyrobených preparátů.⁷

Chemická syntéza kyseliny askorbové vychází z D-glukosy, která je katalytickou hydrogenací převedena na D-sorbitol. Ten mikrobiální oxidací (*Acetobacter suboxidans*) poskytuje L-sorbosu. L-sorbosa s acetonem v přítomnosti kyseliny sírové vytváří 2,3:4,6-bis-(O-isopropyliden)- α -L-sorbofuranosu, jejíž oxidací manganistanem draselným v alkalickém prostředí se získá kyselina diaceton-2-oxo-L-gulonová, která po hydrolýze chránicích skupin poskytne kyselinu askorbovou.⁹

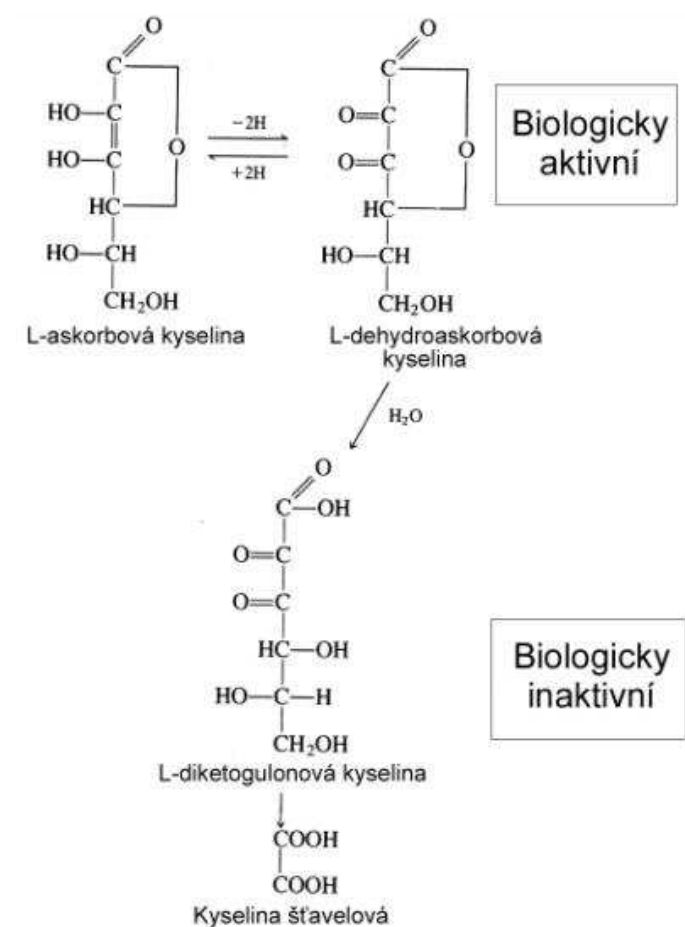


Obrázek 4: Chemická syntéza kyseliny askorbové⁹

5.1.2 Stabilita a rozklad kyseliny askorbové

Kyselina askorbová patří mezi nestabilní látky. Existuje mnoho faktorů, které její stabilitu ovlivňují: působení světla, zvýšená teplota, změna pH, přítomnost kyslíku a iontů kovů (zejména mědi).¹⁰

Při metabolickém rozkladu kyseliny askorbové dochází k její přeměně až na CO₂. Meziprodukty jsou kyselina L-dehydroaskorbová, L-diketogulonová kyselina a kyselina šťavelová.¹¹



Obrázek 5: Rozklad kyseliny askorbové¹¹

Vliv světla

Kyselina askorbová i dehydroaskorbová podléhají degradaci světlem. Na tuto degradaci má vliv přirozené světlo i UV záření. Uchováváním kyseliny askorbové v tmavém skle můžeme tento proces zpomalit.¹⁰

Vliv teploty

Rozklad kyseliny askorbové nejvíce ovlivňuje zvýšená teplota. Množství kyseliny askorbové při zahřívání na teplotu 60 až 80 °C po dobu 1 hodiny klesá pod 20 % původního obsahu. Při uchovávání za laboratorní teploty po dobu 1 hodiny se množství kyseliny askorbové téměř nezměnilo.¹⁰

Vliv pH

Kyselina askorbová je stabilní v kyselém prostředí. Pro přípravu vzorků je optimální pH 2,1. V zásaditém prostředí je kyselina askorbová nestabilní.¹⁰

Vliv iontů kovů

Přítomnost iontů kovů např. Fe^{3+} , Cu^{2+} urychluje rozklad kyseliny askorbové. Přidáním stabilizačního činidla např. EDTA můžeme rozklad kyseliny askorbové zpomalit.¹⁰

Vliv koncentrace

Zvýšením koncentrace kyseliny askorbové v roztoku můžeme rovněž ovlivnit její stabilitu.¹⁰

5.1.3 Lékové formy s kyselinou askorbovou

Kyselina askorbová patří v populaci mezi nejčastěji používané vitaminy. Dle údajů SÚKL je v České republice momentálně registrovaných a na trhu obchodovaných čtyřicet sedm léčivých přípravků s Vitamínem C v pevných a tekutých lékových formách.^{12, 13}

5.1.3.1 Pevné lékové formy

Mezi pevné lékové formy patří tablety, šumivé tablety, tobolky, prášky pro přípravu perorálního roztoku a prášky pro přípravu injekčních a infuzních roztoků. Existují přípravky, které obsahují vitamin C jako hlavní účinnou látku, nebo preparáty kombinované s dalšími látkami.^{12, 13}

Tablety

Celaskon tablety 100 mg, 250 mg (Zentiva) – prevence a léčba nedostatku vitamínu C

Celaskon 100 mg ochucené tablety (Zentiva) – určené převážně pro děti

Kombinované přípravky:

Ascorutin (Zentiva) – rutosid 20 mg, kyselina askorbová 100 mg, používá se převážně při zvýšené lomivosti kapilár

Coldrex tablety (GlaxoSmithKline) – paracetamol 500 mg, kofein 25 mg, fenylefrin 5 mg, kyselina askorbová 30 mg – přípravek určený k léčbě příznaků chřipky

Sorbifer Durules (AstraZeneca) – síran železnatý 320 mg, kyselina askorbová 60 mg – prevence a léčba anemií

Šumivé tablety

C-vitamin 1000 mg (Pharmavit), **Celaskon 500 mg** (Zentiva), **Aditiva Vitamin C 1000 mg** – prevence a léčba nedostatku vitamínu C

Kombinované:

Acylpyrin + C (Herbacos) – kyselina acetylsalicylová 320 mg, kyselina askorbová 200 mg - léčba bolesti a horečky při chřipce a nachlazení

Aspirin C (Bayer) – kyselina acetylsalicylová 400 mg, kyselina askorbová 240 mg - léčba bolesti a horečky při chřipce a nachlazení

Magnesium 250 mg (Pharmavit) – hořčík 250 mg, kyselina askorbová 150 mg – prevence a léčba nedostatku hořčíku

Tobolky

Celaskon long effect 500 mg (Zentiva) – tvrdé želatinové tobolky obsahující peletky – prevence a léčba nedostatku vitamínu C

Kombinované

Cyclo 3 Fort (Pierre Fabre) – tvrdá želatinová tobolka – listnatcový extrakt 150 mg, hesperidin 150 mg, kyselina askorbová 100 mg – léčba cévní nedostatečnosti

Gripostad (Stada) – tvrdá želatinová tobolka - Paracetamol 200 mg, kyselina askorbová 150 mg, kofein 25 mg, chlorfenamin 2,5 mg – symptomatická léčba chřipky

Prášky pro přípravu perorálního roztoku

Coldrex horký nápoj (GlaxoSmithKline) – paracetamol 750 mg, phenylefrin 10 mg, kyselina askorbová 60 mg **Junior-** paracetamol 300 mg, phenylefrin 5 mg, kyselina askorbová 20 mg **Max grip** – paracetamol 1000 mg, phenylefrin 10 mg, kyselina askorbová 70 mg – sáčky pro přípravu nápoje k symptomatické léčbě chřipky.

Prášky pro přípravu injekčních a infuzních roztoků

Cernevit (Baxter) – 125 mg kyseliny askorbové a další vitamíny – doplnění vitamínu u pacientů na parenterální výživě.

5.1.3.2 Tekuté léčivé formy

Mezi tekuté léčivé formy řadíme infuze, injekce a sirupy.^{12, 13}

Infuze

Vitamin C-injektapas 7,5 g (PASCOE) – 150 mg kyseliny askorbové v 1 ml koncentrátu pro infuzní roztok - prevence a terapie nedostatku vitamínu C, pokud nemůže být odstraněn výživou ani perorálním podáváním, methemoglobinemie u dětí.

Injekce

Acidum Ascorbicum Biotika (BB Pharma) – 500 mg kyseliny askorbové v 5 ml roztoku – intravenózní podání- prevence a terapie nedostatku vitamínu C.

Sirupy

Multi-sanostol (Takeda Pharma) – 100 mg kyseliny askorbové v 10 g sirupu – vitamínový přípravek pro děti od 1 roku – prevence a léčba nedostatku vitaminů, terapie ztráty chuti k jídlu, při poruchách vývoje a růstu, při fyzické a psychické vyčerpanosti.

5.1.4 Farmakologické účinky kyseliny askorbové

Kyselina askorbová působí v mnoha biochemických procesech jako katalyzátor a enzymový kofaktor. Uplatňuje se v hydroxylačních reakcích při tvorbě hormonů, neurotransmiterů a syntéze karnitinu. Podílí se na tvorbě kolagenu, pomáhá při hojení ran, podporuje funkci imunitního systému. Dalšími účinky je antioxidační aktivita, pomáhá proti ateroskleróze a při vstřebávání železa.^{14, 15}

Denní dávka kyseliny askorbové se pohybuje kolem 60 – 100 mg denně, u dětí je dávka v závislosti na věku přibližně poloviční než u dospělých, u kuřáků je nutná dávka o něco vyšší (140 mg za den). V případě nemoci, stresu, fyzické námahy se doporučují dávky 500 – 1000 mg za den.^{14, 15}

Kyselina askorbová se vstřebává aktivním transportem ve střevě. Při podávání dávek 100 mg/den se absorbuje 80-90 % vitamínu. Při dávkách vyšších absorpce rychle klesá.¹⁵

Eliminace kyseliny askorbové a jejích metabolitů probíhá močí. Kyselina askorbová je netoxická, ale při vyšších dávkách (2-6 g/den), může způsobovat gastrointestinální potíže nebo průjem. Tyto nežádoucí účinky můžeme snadno odstranit snížením dávky.¹⁵

Nedostatek kyseliny askorbové se projevuje krvácením dásní, suchou kůží, únavou, zhoršením hojení ran, depresi. Nemoc charakterizující tento nedostatek se nazývá kurděje – skorbut. Odtud byl odvozen název kyseliny askorbové, jelikož působí proti skorbutu. Proti této nemoci postačí denní příjem kyseliny askorbové jen 10 mg.^{14, 15}

Tvorba kolagenu

Kyselina askorbová je nezbytná pro tvorbu kolagenu. Kolagen je bílkovina obsažená v kůži, kostech, zubech, cévách, v podstatě ve všech částech těla. Kolagen se skládá z polypeptidových řetězců, které obsahují převážně aminokyseliny glycin a hydroxyprolin. V prvním kroku syntézy vzniká z glycinu a prolinu prokolagen. Dalším krokem je hydroxylace prolinu na hydroxyprolin a hydroxylace lysinu na hydroxylysin, který je potřebný k zesíťování struktury. Tyto reakce jsou katalyzovány enzymy: prolyl-4-hydroxyláza a lysyl-hydroxyláza.¹⁶

Hojení ran

Kyselina askorbová hraje důležitou roli při hojení ran a regeneračních procesech, protože stimuluje tvorbu kolagenu. Její podávání se doporučuje po operacích. Doporučené dávky pro urychlení hojení jsou 500 – 1000 mg/den.¹⁵

Toxické látky

Kyselina askorbová pomáhá chránit organismus před škodlivinami a těžkými kovy. Těžké kovy, např. olovo, kadmium a arzen, produkuje průmysl a jsou zastoupeny i v cigaretovém kouři. Proto je u kuřáků doporučený vyšší příjem vitamínu C než u nekuřáků. Mezi další škodliviny patří nitrosaminy obsažené v cigaretovém kouři, ovzduší a konzervovaném mase. Nitrosaminy vznikají přeměnou dusičnanů a dusitanů.¹⁷

Antioxidant

Kyselina askorbová působí jako redukční činidlo proti volným radikálům, které vznikají v organismu při biochemických procesech, působením slunce, znečištěného životního prostředí a kouřením. Volný radikál je molekula s nepárovým elektronem, která je schopná po krátkou dobu samostatné existence. Nadprodukce kyslíkových radikálů se nazývá oxidační stres, který se podílí na poškozování nukleových kyselin, bílkovin a lipidů v našem těle.¹⁸

Vysoký krevní tlak, ateroskleróza, cukrovka, střevní potíže, poškození srdce jsou připisovány působení volných radikálů. Mají vliv i na stárnutí organismu.¹⁹

Antialergické účinky

Kyselina askorbová má význam v prevenci a léčbě alergických stavů. Má schopnost snižovat hladinu histaminu v krvi, který je uvolňován z žírných buněk při alergické reakci.¹⁷

Vstřebávání železa

Železo je nezbytným prvkem pro organismus. Kyselina askorbová je důležitá při vstřebávání železa. Napomáhá redukci Fe^{3+} na Fe^{2+} .¹⁵

Zdravé oči

Kyselina askorbová chrání orgány očí před působením volných radikálů, které způsobují šedý zákal, degeneraci žluté skvrny a před diabetickou retinopatií.

Podáváním zvýšených dávek vitamínu C (až 1000 mg/den) podporuje produkci glutationu, který působí jako antioxidant v oku a chrání před šedým zákalem. Dávky 1000 mg/den u diabetiků chrání sítnici před diabetickou retinopatií, jelikož snižují glykaci orgánů oka a hladinu sorbitolu.¹⁷

Nachlazení

Kyselina askorbová je nepostradatelná pro správné fungování imunitního systému. Podávání Vitamínu C zvyšuje funkci bílých krvinek, interferonů a protilátek. Při nachlazení pomáhá organismu se rychleji zbavit příznaků nemoci, bojuje proti virům. Urychluje dobu léčení a mírní symptomy. Přínos kyseliny askorbové v prevenci proti nachlazení není prokázaný.¹⁵

Ateroskleróza

Ateroskleróza je významným rizikovým faktorem vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Kyselina askorbová zabraňuje oxidaci LDL cholesterolu na aktivní oxidovanou formu, která má schopnost pronikat do endoteliálních buněk cév. Tento děj je jedním z hlavních faktorů vzniku aterosklerózy.¹⁵

Nedostatek kyseliny askorbové snižuje funkci enzymu 7-alfa-cholesterolhydroxylázy, který má za úkol odbourávat cholesterol. To má za následek hromadění cholesterolu v těle, jeho usazování v tepnách a zvýšenou tvorbu žlučových kamenů.¹⁹

5.2 Diferenciální skenovací kalorimetrie

Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) patří spolu s diferenční termickou analýzou a termogravimetrií mezi metody termické analýzy. DSC je často používanou a významnou metodou ve farmacii i dalších oborech lidské činnosti.^{1, 20}

Principem metody je studium změn fyzikálních a chemických vlastností vzorku určité látky, který je plynule zahříván nebo ochlazován. Nejčastěji používaná rychlost je 10 °C za minutu. Předmětem zkoumání je rozdíl teplot nebo energií mezi zkoumanou látkou a referenčním vzorkem. Tepelný rozsah přístrojů se pohybuje od 150 °C do 1500 °C. Měření se provádí v dusíkové atmosféře, bez přístupu vzduchu.²⁰

Výhodou této metody je nízká spotřeba vzorku, která je 3-10 mg. Vzorky se navažují do takzvané „pánvičky“, které mají různý tvar a způsob zavírání. Referenčním vzorkem většinou bývá prázdná pánvička.²⁰

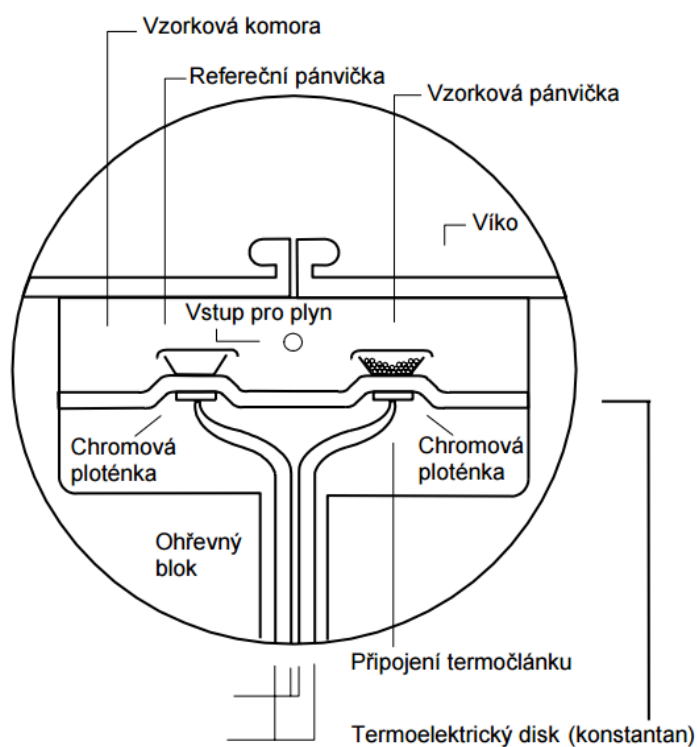
5.2.1 Charakteristika metody DSC

Rozlišujeme dva typy DSC přístrojů – DSC s tepelným tokem (heat-flux DSC) a DSC s výkonovou kompenzací (power-compensation DSC).

DSC s tepelným tokem

Přístroj je tvořen dvěma teplotními čidly, která jsou umístěna v jedné kalorimetrické cele a spojeny tepelným mostem. Při zahřívání mají zkoumaný i referenční vzorek zpočátku stejnou teplotu. V případě že dojde u zkoumaného vzorku k fyzikální nebo chemické přeměně, teploty zkoumaného a referenčního vzorku jsou rozdílné. Výsledkem metody je závislost tepelného toku na teplotě.^{20, 21, 22}

Existují dva typy DSC přístrojů s tepelným tokem – diskový a cylindrický.



Obrázek 6: Přístroj pro DSC s tepelným tokem – diskový typ²²

DSC s výkonovou kompenzací

U tohoto typu přístroje je referenční i zkoumaný vzorek umístěn a zahříván každý v samostatné cele. Teplota referenčního i zkoumaného vzorku se udržuje na stejné teplotě. Během zahřívání dochází u zkoumaného vzorku k fyzikálním a chemickým přeměnám. Tyto přeměny můžou být exotermické nebo endotermické. Při exotermické reakci je teplota zkoumaného vzorku vyšší než u referenčního vzorku. Pro vyrovnání teplot obou vzorků snížíme přísun tepla u zkoumaného vzorku. Při endotermické reakci bude teplota zkoumaného vzorku nižší než referenčního. Zvýšením přísunu tepla u zkoumaného vzorku dojde k vyrovnání teplot obou vzorků. Výsledkem metody je závislost příkonu potřebného k udržení stejných teplot vzorků na čase.^{20, 21, 23}

Metoda je hodnocena graficky prostřednictvím kalorimetrické křivky (termogramu), která představuje závislost tepelného toku na teplotě nebo čase.

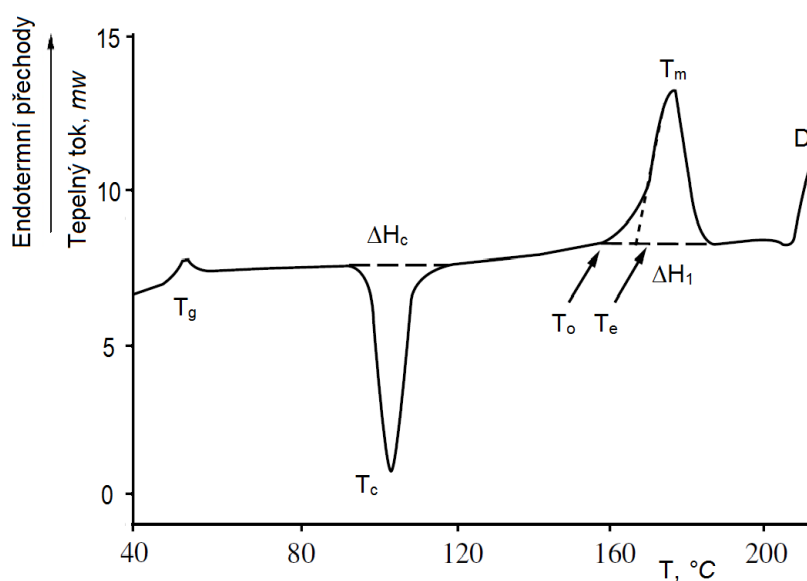
Na obrázku 7 je ukázka termogramu sacharosy. Jsou zde znázorněny jednotlivé body:

T_g – skelný přechod

T_c – teplota rekrystalizace

T_0 – počáteční teplota tání

T_m – teplota vrcholu píku tání



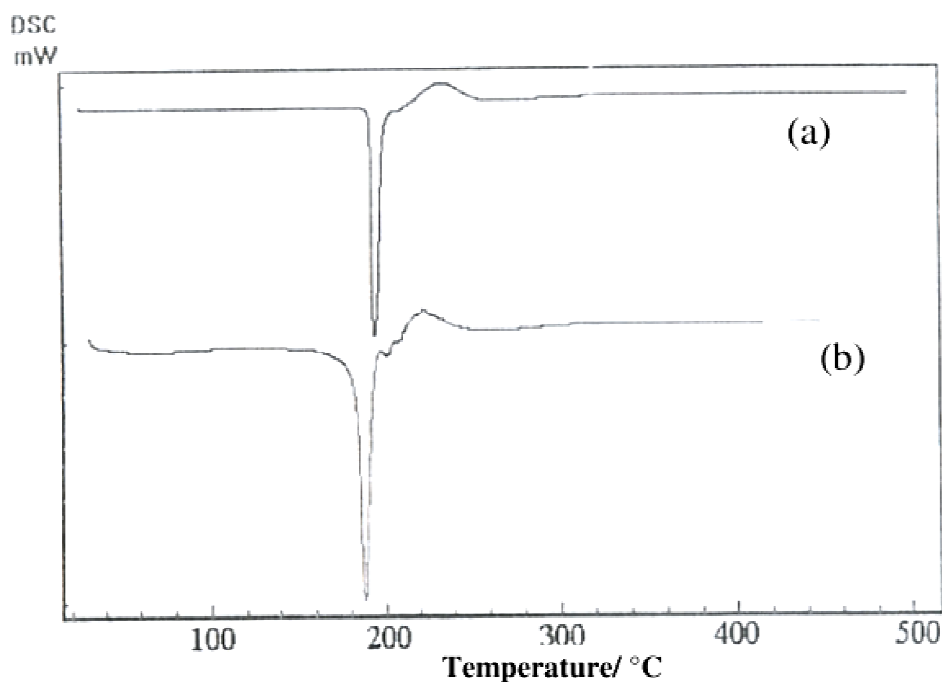
Obrázek 7: Termogram sacharosy (záznam DSC) ²⁰

5.2.2 Hodnocení kyseliny askorbové metodami termické analýzy

Nunes, Melo, Moura, Farias z Brazílské univerzity se zabývali roku 2004 studiem kyseliny askorbové pomocí termické analýzy metodami: diferenciální skenovací kalorimetrie a termogravimetrie. Předmětem výzkumu byla čistá kyselina askorbová a lisované tablety, které obsahovaly kyselinu askorbovou. Měření bylo prováděno přístrojem SHIMATZU DSC – 50 H v dusíkové atmosféře 50 ml/min. Navážka vzorku činila 4 mg. Měření probíhalo v rozmezí teplot 30 – 500 °C s rychlostí ohřevu 10 °C za minutu. ²⁴

Výsledkem měření byly dva termogramy s rozdílnými teplotami tání kyseliny askorbové. Vzorek A představuje čistou kyselinu askorbovou a jeho teplota tání je

193 °C. Na druhém termogramu je znázorněna teplota tání kyseliny askorbové lisované do tablet, která je 188 °C. Nižší teplota tání u druhého vzorku je způsobena přítomností látek pomocných. Použitými pomocnými látkami byl mastek a Aerosil.²⁴



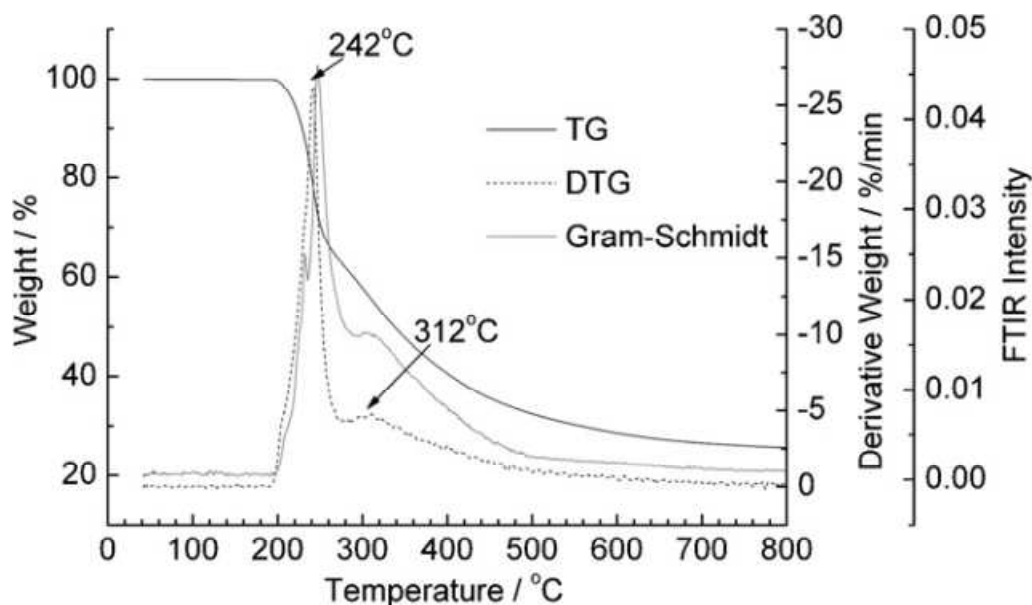
Obrázek 8: Termogramy a) čistá kyselina askorbová, b) tabletovaná kyselina askorbová²⁴

Další studií pomocí termogravimetrie (TG) se zabývali čínští vědci Shi Jingyan, Liu Yuwen, Wang Zhiyong, Wang Cunxin. Předmětem studie bylo chování pevné kyseliny askorbové v atmosféře dusíku v rozmezí teplot 25-800 °C pomocí metody TG. Pro měření bylo použito 10 mg vzorku a zahříváno z 25 °C na 800 °C rychlostí 20 °C/min pod atmosférou dusíku rychlostí průtoku 100 ml/min.²⁵

Během zahřívání došlo k rozkladu kyseliny askorbové až na těchto pět rozkladných produktů H_2O , CO_2 , CO , CH_4 a HCOOH .²⁵

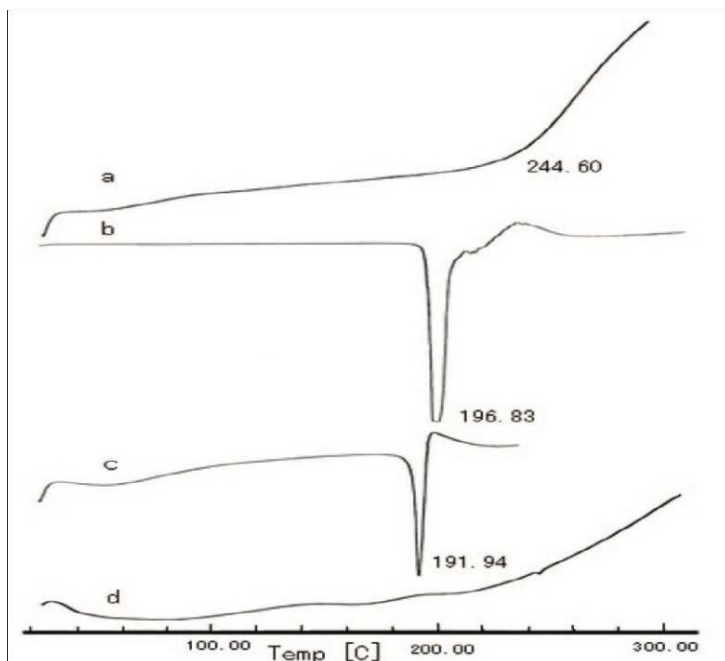
Výsledky ukazují, že kyselina askorbová se začíná rozkládat při 191 °C. Kyselina askorbová se rozkládala ve třech fázích. Během první fáze docházelo k uvolňování H_2O a CO_2 , při 191-268 °C. Ztráta hmotnosti byla 36 %. Druhá fáze

probíhala v rozmezí teplot 268-504 °C se ztrátou hmotnosti 32 % a za uvolnění CO₂ a CO. Třetí etapa 504-800 °C, ve které se uvolnil CO a CH₄. Celková ztráta hmotnosti byla asi 74 %. Během rozkladu docházelo k dehydrataci a dekarboxylaci za vzniku furfuralu.²⁵



Obrázek 9: Zahřívání kyseliny askorbové²⁵

Jak již bylo uvedeno dříve, kyselina askorbová je termolabilní látka. X. L. Tian, D. F. Tian, Z. Y. Wang a F. K. Mo zkoumali metodu zvýšení stability kyseliny askorbové vytvořením komplexu s chitosanem. Chitosan je biologicky rozložitelný a netoxický polysacharidový polymer, který je rozpustný ve vodě při pH nižším než 6,5. Pomocí metody DSC byla zjišťována teplota tání jednotlivých látek v rozmezí teplot 30 °C - 300 °C. Samotný chitosan tál přibližně při 244,6 °C. Graf b znázorňuje teplotu tání samotné kyseliny askorbové, která byla 196,83 °C. Po vytvoření směsi chitosanu a kyseliny askorbové se teplota tání snížila na 191,94 °C. Oproti tomu vznikem komplexu Chitosan-Vitamin C se teplota tání zvyšuje a endotermický vrchol v daném teplotním rozmezí nebylo možno pozorovat. Tento jev byl pravděpodobně způsoben iontovou interakcí mezi chitosanem a kyselinou askorbovou. Možnost využití toho komplexu ve farmacii je předmětem dalšího výzkumu.²⁶



Obrázek 10: DSC termogram a) chitosan, b) kyselina askorbová, c) směs kyseliny askorbové a chitosanu, d) komplex chitosan-kyselina askorbová²⁶

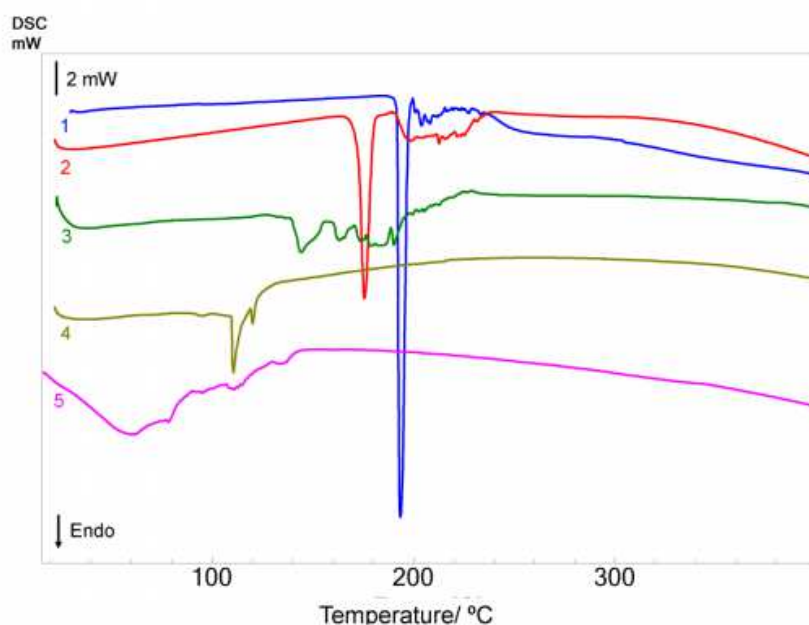
Kyselina askorbová se uplatňuje také v kosmetickém průmyslu. Maria Wydaiany Costa de Lima, Edilamar Pereira da Silva a kolektiv studovali fyzikálně-chemické vlastnosti pevné a modifikované kyseliny askorbové pomocí DSC. Vzorky použité ve studii jsou uvedeny na obrázku 11. Měření bylo prováděno v kalorimetru Shimadzu 60 rychlostí zahřívání 10 °C/min při teplotě 25 až 400 °C.²⁷

| Samples | INCI | Supplier |
|------------------|--|-------------------------------------|
| Vitamin C | Ascorbic Acid | Galena |
| Vitamin C type 1 | Ascorbic Acid 2-Glucoside | Attivos Magistrais |
| Vitamin C type 2 | Ascorbic Acid (And) Glycerin (And) Cyclopentasiloxane (And) Cyclohexasiloxane (And) Water (And) Palmitoyl Hydroxypropyltrimonium Amylopectin / Glycerin Crosspolymer (And) Lauryl PEG/PPG-18/18 Methicone (And) Phenoxyethanol (And) Hydrogenated Lecithin (And) Methylparaben (And) Butylparaben (And) Ethylparaben (And) Propylparaben | Galena |
| Vitamin C type 3 | Water, Butylene glycol, Magnesium ascorbyl phosphate, Xanthan gum, polysorbate 20, Atelocollagen, Sodium chondroitin sulfate | Galena |
| Vitamin C type 4 | Water (and) Butylene Glycol (and) Magnesium Ascorbyl Phosphate (and) Atelocollagen (and) Sodium Chondroitin Sulfate (and) Xanthan Gum (and) Polysorbate 20 | DEG importação de produtos quimicos |

Obrázek 11: Typy kyseliny askorbové²⁷

Výsledkem měření je DSC křivka vitamínu C s teplotou tání při 192 °C. Vitamin C typu 1 představuje ostrý pík s teplotou tání 173 °C. Vitamin C typu 2 ukázal endotermickou křivku, ale žádný pík, který by představoval tavení vitamínu C, což je zřejmě způsobeno tím, že molekula Vitaminu C je potažena vytvořenou tenkou lipofilní vrstvou. Křivka patřící vitaminu typu C3 zobrazuje endotermní změny mezi 90 °C – 124 °C. Snížení teploty lze přičíst vytvořenému povlaku. Typ vitaminu C4 ukazuje endotermní děj od 33 °C do 150 °C, což lze připsat nátěru vzorku.²⁷

Vitamin C je nejstabilnější v pevném stavu (teplota tání kolem 190 °C). Vitamin C typu 1 je méně stabilní než čistý vitamin C. Vitaminy C typu 2, 3 a 4 jsou ve formě viskózní kapaliny, proto jsou méně stabilní.²⁷



Obrázek 12: Termogramy 1) Vitamin C 2) Vitamin C typ 1, 3) Vitamin C typ 2, 4) Vitamin C typ 3, 5) Vitamin C typ 4²⁷

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Použité suroviny

Kyselina askorbová

Výrobce: Dr. Kulich Pharma, s.r.o.

Šarže: 201005291

Atest: 0050/0211/538

6.2 Použité přístroje

Navažovací váhy

Výrobce: Kern 440-45N; KERN & SOHN GmbH, Německo

Analytické váhy

HR-120, A&D Company, Tokio, Japonsko

Zařízení DSC

DSC 200 F3 Maia (NETZSCH-Gerätebau GmbH, Wittelsbacherstrasse 42, D-95100 Selb, Německo)

Přístroj pro testování pevnosti materiálu v tlaku a tahu

Zwick/Roell T1-FRO 50, Zwick GmbH, Ulm, Německo, s ovládacím programem TestXpert verze 9.01

Lisovací přípravek

Adamus HT, Machine Factory Group, Szczecin, Polsko

Složení: matrice, dolní trn, horního trn a zarážky pro správnou polohu dolního trnu

6.3 Použité metody

6.3.1 Stanovení parametrů testu stresové relaxace

- **Příprava tablet:**

Pro stanovení parametrů stresové relaxace bylo hodnoceno vždy 10 tablet připravených při lisovacích silách 5, 10, 15 kN. Navážka každého vzorku činila 500 mg s přesností $\pm 0,5$ mg. Pro lisování byl použit lisovací přípravek Adamus HT, v zařízení pro testování pevnosti materiálu v tlaku Zwick/Roell T1-FRO 50. Průměr matrice lisovacího zařízení činil 13 mm.

- **Nastavení přístroje bylo následující:**

| | |
|--|--------------------------|
| Metoda měření | diferenční dráha |
| Okamžik vynulování dráhy | na předzatížení |
| Odlehčení zkušební cyklus | standardní síla 2 N |
| Rychlost cyklů | dráha příčnicku 0,5 mm/s |
| Definované síly pro zatížení | 5, 10, 15 kN |
| Prodleva na ref. hod. síly při zatížení | 180 s |
| Předzatížení | 2 N |
| Rychlost předzatížení | 0,5 mm/s |
| Prodleva na předzatížení | bez prodlevy |
| Čas na dosažení předzatížení | 60 s |
| Vynulovat sílu na předzatížení | ano |
| Tvar vzorku pro výpočet průřezu | není požadován |
| Zkušební délka vzorku | 100 mm |

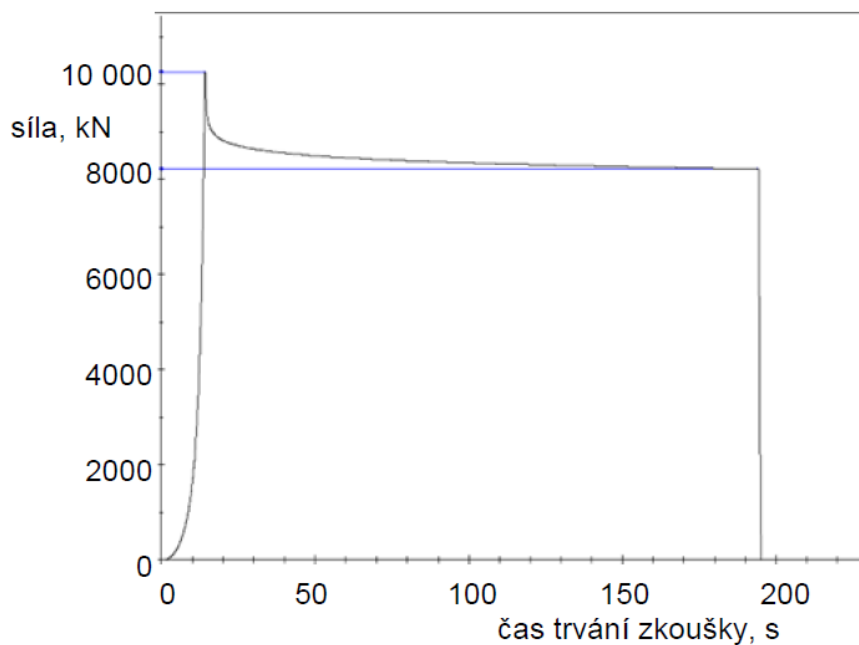
Vzdálenost čelistí

13 mm

Rychlost nastavení LE:

100 mm/min

- **Hodnocení parametrů testu stresové relaxace**



Obrázek 13: Příklad záznamu stresové relaxace²⁸

Pro výpočet parametrů stresové relaxace byla použita rovnice:

$$LT = A_1 \cdot e^{-\frac{1}{T_1} \cdot t} + A_2 \cdot e^{-\frac{1}{T_2} \cdot t} + A_3 \cdot e^{-\frac{1}{T_3} \cdot t} + A_0 \quad (1)$$

LT [MPa]

lisovací tlak

t [s]

čas

A₁₋₃ [MPa]

vzájemné působení částic v různém stádiu deformace

A₀ [MPa]

tlak, který zůstane v materiálu po prodlevě

T₁₋₃ [s]

relaxační konstanta udávající rychlost a strmost děje

Pro výpočet plasticity slouží rovnice:

$$PT_i = A_i \cdot T_i \quad (2)$$

PT_i [MPa.s] plasticita

A_i [MPa] parametr elasticity pro daný děj

T_i [s] relaxační konstanta pro daný děj

6.3.2 Stanovení energetických parametrů ze záznamu síla-dráha

- **Příprava tablet:**

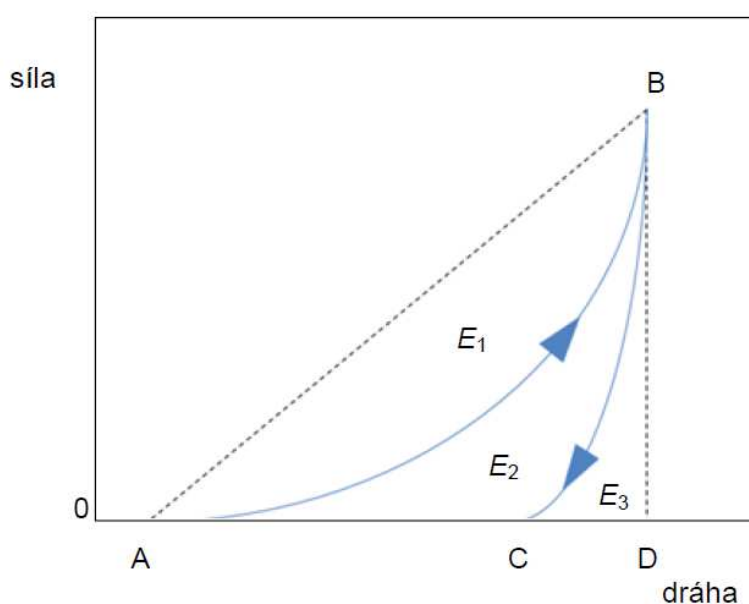
Pro stanovení parametrů záznamu síla – dráha bylo hodnoceno vždy 10 tablet připravených při lisovacích silách 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 kN. Navážka každého vzorku činila 500 mg s přesností $\pm 0,5$ mg. Pro lisování byl použit lisovací přípravek Adamus HT, v zařízení pro testování pevnosti materiálu v tlaku Zwick/Roell T1-FRO 50. Průměr matrice lisovacího zařízení činil 13 mm. Takto připravené tablety byly dále použity pro hodnocení metodou DSC (viz kapitola 6.3.3)

- **Nastavení přístroje bylo následující:**

| | |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| Metoda měření | diferenční dráha |
| Okamžik vynulování dráhy | na předzatížení |
| Odlehčení zkušební cyklus | standardní síla 2 N |
| Rychlost cyklů | dráha příčnicku 0,5 mm/s |
| Definované síly pro zatížení | 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 kN |
| Předzatížení | 2 N |
| Rychlost předzatížení | 0,5 mm/s |
| Prodleva na předzatížení | bez prodlevy |
| Čas na dosažení předzatížení | 60 s |

| | |
|---------------------------------|----------------|
| Vynulovat sílu na předzatížení | ano |
| Tvar vzorku pro výpočet průřezu | není požadován |
| Zkušební délka vzorku | 100 mm |
| Vzdálenost čelistí | 13 mm |
| Rychlost nastavení LE: | 100 mm/min |

- Hodnocení parametrů ze záznamu síla – dráha



Obrázek 14: Příklad záznamu síla-dráha ²⁸

| | |
|--------------------------|---|
| E₁ [J] | energie předlisování <i>energie spotřebovaná na tření mezi částicemi navzájem a mezi částicemi a stěnami matrice</i> |
| E₂ [J] | energie akumulovaná v tabletě <i>plastická energie</i> |
| E₃ [J] | energie uvolněná z tablety po relaxaci tablety <i>elastická energie</i> |

Z výše uvedených hodnot se vypočte celková energie spotřebovaná během lisovacího procesu:

$$E_{MAX} = E_1 + E_2 + E_3 \quad (3)$$

E_{MAX} [J] energie spotřebovaná během lisovacího procesu

E_1 [J] energie předlisování

E_2 [J] energie akumulovaná v tabletě

E_3 [J] energie uvolněná z tablety po relaxaci tablety

Další hodnotou je energie spotřebovaná na tvorbu tablety:

$$E_{LIS} = E_2 + E_3 \quad (4)$$

E_{LIS} [J] energie spotřebovaná na tvorbu tablety

E_2 [J] energie akumulovaná v tabletě

E_3 [J] energie uvolněná z tablety po relaxaci tablety

Plasticita se vypočte:

$$PI = \frac{E_2}{E_2 + E_3} \quad (5)$$

PI [%] plasticita

E_2 [J] energie akumulovaná v tabletě

E_3 [J] energie uvolněná z tablety po relaxaci tablety

6.3.3 DSC hodnocení kyseliny askorbové

- **Příprava vzorku:**

Z předem vylisovaných tablet jsem odebrala přibližně ze středu tablety malé množství vzorku (cca 2-10 mg). Tímto postupem jsem získala 9 vzorků: 1. vzorkem byla čistá kyselina askorbová – nelisovaná, zbylé vzorky byly odebrány z tablet, používaných pro stanovení parametrů zánamu síla – dráha (viz kapitola 6.6.2). Dále jsem si připravila hliníkové kelímky, které slouží k umístění vzorků. Před začátkem měření jsem si vždy na analytických vahách zvážila prázdný kelímek a poté i kelímek se vzorkem. Takto zhotovený vzorek jsem pomocí ručního lisu zavíčkovala

a pomocí pinzety umístila vpravo přesně na střed vymezené plochy senzoru tepelného toku. Spolu s měřeným vzorkem jsem si připravila i vzorek referenční, který představoval prázdný kelímek. Referenční vzorek jsem vložila vlevo na vyhrazené místo tepelného senzoru. Po uzavření komory dvěma vnitřními kryty a jedním vnějším byl vzorek připraven k měření.

- **Vlastní měření:**

Před prvním měřením byla měřicí komora zahřátá na 500 °C, aby byla vyloučena přítomnost případných nečistot. Vlastní měření probíhalo v dusíkové atmosféře, průtok čistícího plynného dusíku byl 40 ml/min a ochranného plynného dusíku 60 ml/min.

Do speciálního programu, který zaznamenával průběh měření (NETZSCH Proteus Software), jsem zadala tyto údaje:

- měření s korekcí/bez korekce,
- hmotnost vzorku a prázdného kelímku,
- hmotnost referenčního vzorku,
- název,
- teplotní program.

Teplotní program je složen z teploty počátečního stavu, cílové teploty pro zahřívání nebo chlazení, zahřívací/chladicí rychlosti a teploty konečného stavu. Před začátkem měření je nutné ručně spustit přívod dusíku, po ukončení měření přívod dusíku uzavřeme.

Přístroj mění dle teplotního programu podmínky v komoře. Změny, ke kterým dochází ve vzorku, zaznamenává do křivky (x = čas v min, y = teplota v °C, tok energie ve W). Tepelné změny se promítnou na křivce nejčastěji ve formě píku, který charakterizujeme teplotami a plochou. Skelný přechod je zaznamenán výškovým skokem křivky. Po ukončení měření byla získaná data (křivky i teplotní program) hodnocena v programu Netzsch Proteus Analysis.

Během měření jsem použila teplotní program:

| | | |
|-----------------|-------|---------------------|
| Start | 20°C | |
| Izoterma | 20°C | 10 min |
| Chlazení | -30°C | rychlostí -10°C/min |
| Izoterma | -30°C | 10 min |
| Ohřev | 220°C | rychlostí 10°C/min |
| Chlazení | 20°C | rychlostí -40°C/min |
| Stop | 20°C | |

6.3.4 Použitá statistická metoda

Jednotlivá data pro metody síla – dráha a stresová relaxace byla získána s využitím softwaru zařízení pro testování pevnosti v tlaku a tahu T1 – FRO 50 TestXpert v9.01. Výsledky získané metodou síla – dráha byly zpracovány v programu OriginPro 7.5. DSC termogramy jsem vyhodnocovala v programu Netzsch Proteus Analysis. Pro vytvoření tabulek a grafů jsem využila program Microsoft Excel.

7 VÝSLEDKY

7.1 Vysvětlivky k tabulkám a grafům

| | |
|---|--|
| A₁ [MPa] | vzájemné působení elasticky deformovaných a nedeformovaných částic |
| A₂ [MPa] | vzájemné působení elasticky a plasticky deformovaných částic |
| A₃ [MPa] | vzájemné působení elasticky deformovaných částic mezi sebou |
| E₁ [J] | energie předlisování |
| E₂ [J] | energie akumulovaná v tabletě (plastická energie) |
| E₃ [J] | uvolněná po relaxaci tablety (elastická energie) |
| E_{lis} [J] | energie spotřebovaná na tvorbu tablety |
| PT₁, PT₂, PT₃ [MPa.s] | plasticita z testu stresové relaxace |
| PI [%] | plasticita ze záznamu síla-dráha |
| SMO | směrodatná odchylka |
| T₁, T₂, T₃ [s] | relaxační konstanta |
| Ø | průměr |

7.2 Tabulky

Tabulka 1: Parametry testu stresové relaxace při 5 kN

| 5 kN | Ø | SMO |
|-------------------------------|----------|------------|
| A₁ [MPa] | 2,096 | 0,065 |
| A₂ [MPa] | 1,389 | 0,047 |
| A₃ [MPa] | 0,675 | 0,023 |
| T₁ [s] | 0,244 | 0,006 |
| T₂ [s] | 3,151 | 0,836 |
| T₃ [s] | 45,069 | 1,554 |
| PT₁ [MPa.s] | 0,511 | 0,023 |
| PT₂ [MPa.s] | 4,378 | 0,200 |
| PT₃ [MPa.s] | 30,422 | 1,304 |

Tabulka 2: Parametry testu stresové relaxace při 10 kN

| 10 kN | Ø | SMO |
|-------------------------------|----------|------------|
| A₁ [MPa] | 2,787 | 0,078 |
| A₂ [MPa] | 2,176 | 0,065 |
| A₃ [MPa] | 1,045 | 0,025 |
| T₁ [s] | 0,310 | 0,006 |
| T₂ [s] | 3,514 | 0,102 |
| T₃ [s] | 36,355 | 0,940 |
| PT₁ [MPa.s] | 0,863 | 0,026 |
| PT₂ [MPa.s] | 7,641 | 0,142 |
| PT₃ [MPa.s] | 37,983 | 1,389 |

Tabulka 3: Parametry testu stresové relaxace při 15 kN

| 15 kN | Ø | SMO |
|-------------------------------|----------|------------|
| A₁ [MPa] | 3,192 | 0,055 |
| A₂ [MPa] | 2,506 | 0,034 |
| A₃ [MPa] | 1,247 | 0,038 |
| T₁ [s] | 0,353 | 0,007 |
| T₂ [s] | 3,673 | 0,070 |
| T₃ [s] | 37,174 | 0,712 |
| PT₁ [MPa.s] | 1,128 | 0,036 |
| PT₂ [MPa.s] | 9,201 | 0,190 |
| PT₃ [MPa.s] | 46,339 | 1,399 |

Tabulka 4: Souhrn parametrů síla - dráha

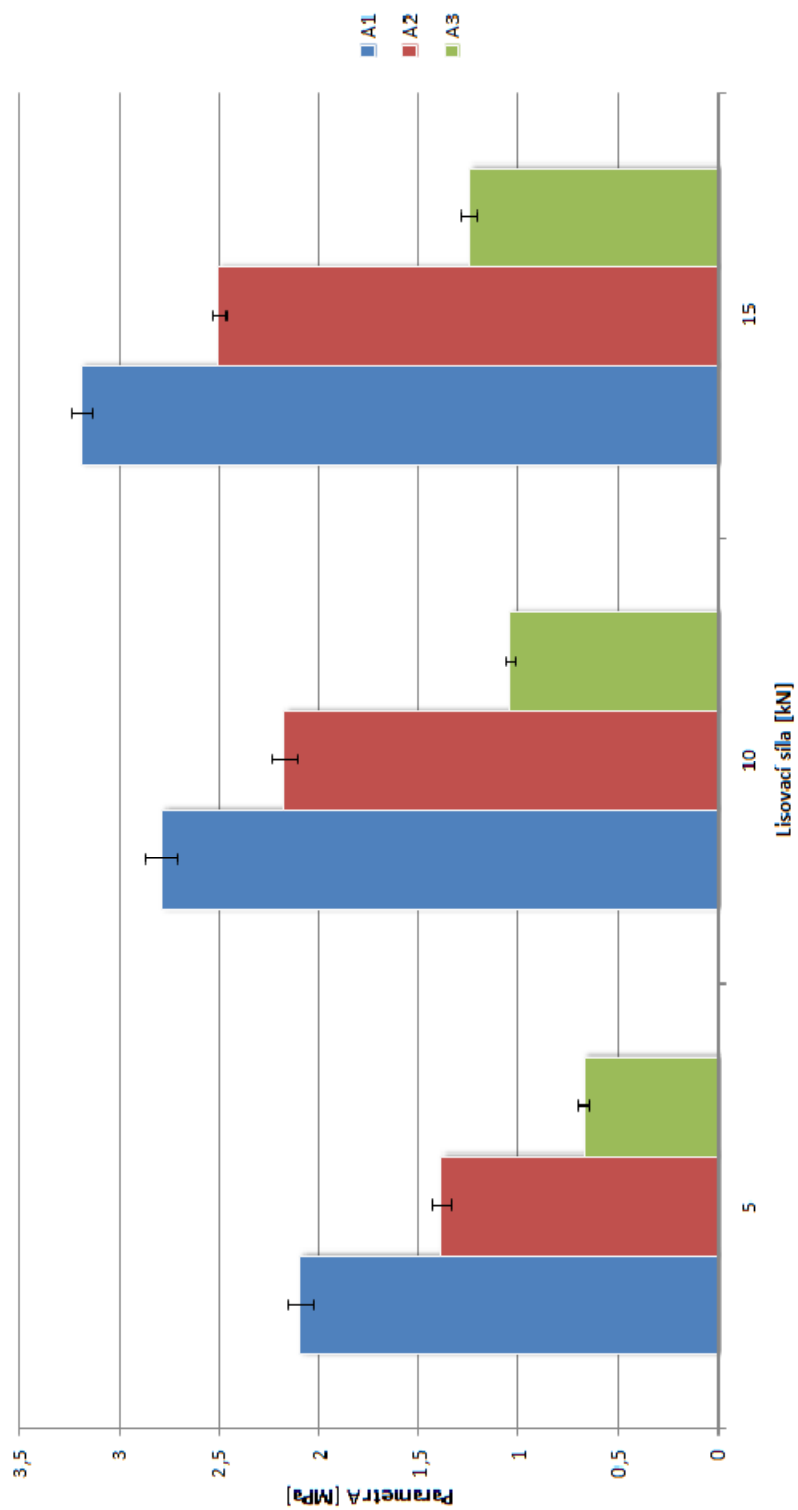
| Parametr | E₁ [J] | | E₂ [J] | | E₃ [J] | | E_{lis} [J] | | PI [%] | |
|---------------------------|--------------------------|------------|--------------------------|------------|--------------------------|------------|----------------------------|------------|---------------|------------|
| Lisovací síla [kN] | Ø | SMO | Ø | SMO | Ø | SMO | Ø | SMO | Ø | SMO |
| 5 | 1,72 | 0,29 | 1,25 | 0,03 | 0,51 | 0,01 | 1,78 | 0,03 | 71,13 | 0,51 |
| 10 | 3,97 | 0,21 | 2,50 | 0,04 | 1,75 | 0,04 | 4,25 | 0,04 | 58,81 | 0,52 |
| 15 | 7,02 | 0,69 | 3,78 | 0,07 | 3,68 | 0,02 | 7,46 | 0,07 | 50,64 | 0,46 |
| 20 | 9,76 | 1,29 | 4,99 | 0,08 | 6,30 | 0,07 | 11,28 | 0,10 | 44,19 | 0,50 |
| 25 | 12,72 | 0,87 | 6,33 | 0,15 | 9,52 | 0,09 | 15,85 | 0,12 | 39,92 | 0,72 |
| 30 | 18,90 | 2,72 | 7,63 | 0,18 | 13,34 | 0,05 | 20,97 | 0,18 | 36,39 | 0,53 |
| 35 | 23,30 | 2,32 | 8,51 | 0,10 | 17,89 | 0,05 | 26,40 | 0,13 | 32,24 | 0,24 |
| 40 | 23,59 | 1,89 | 9,75 | 0,21 | 23,14 | 0,15 | 32,89 | 0,30 | 29,65 | 0,41 |

Tabulka 5: Hodnoty píků z hodnocení metodou DSC

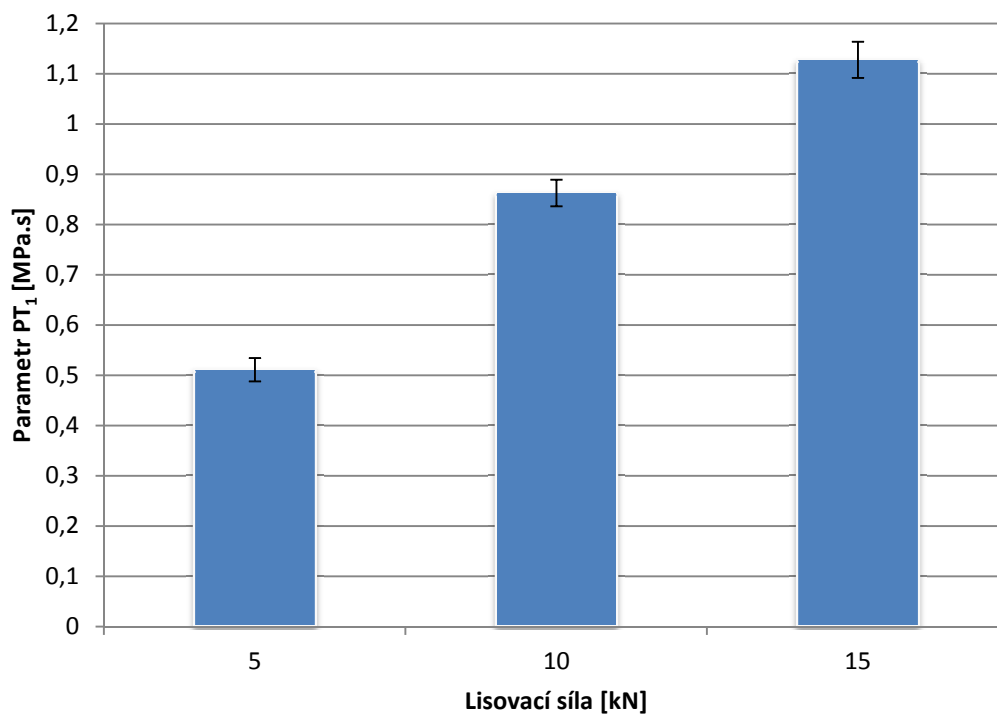
| Lisovací síla [kN] | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 |
|---------------------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Plocha píku [J/g] | 190,6 | 227,7 | 221,5 | 226,3 | 225,4 | 225,3 | 192,1 | 231,9 | 232,9 |
| Vrchol píku [°C] | 198,1 | 197,9 | 198,7 | 197,8 | 197,6 | 197,6 | 197,7 | 198,2 | 197,5 |
| Začátek píku [°C] | 193,0 | 192,7 | 193,0 | 192,9 | 192,7 | 192,9 | 192,8 | 192,6 | 192,6 |
| Konec píku [°C] | 203,6 | 202,5 | 203,2 | 202,1 | 202,3 | 200,7 | 201,3 | 203,4 | 203,6 |

7.3 Grafy

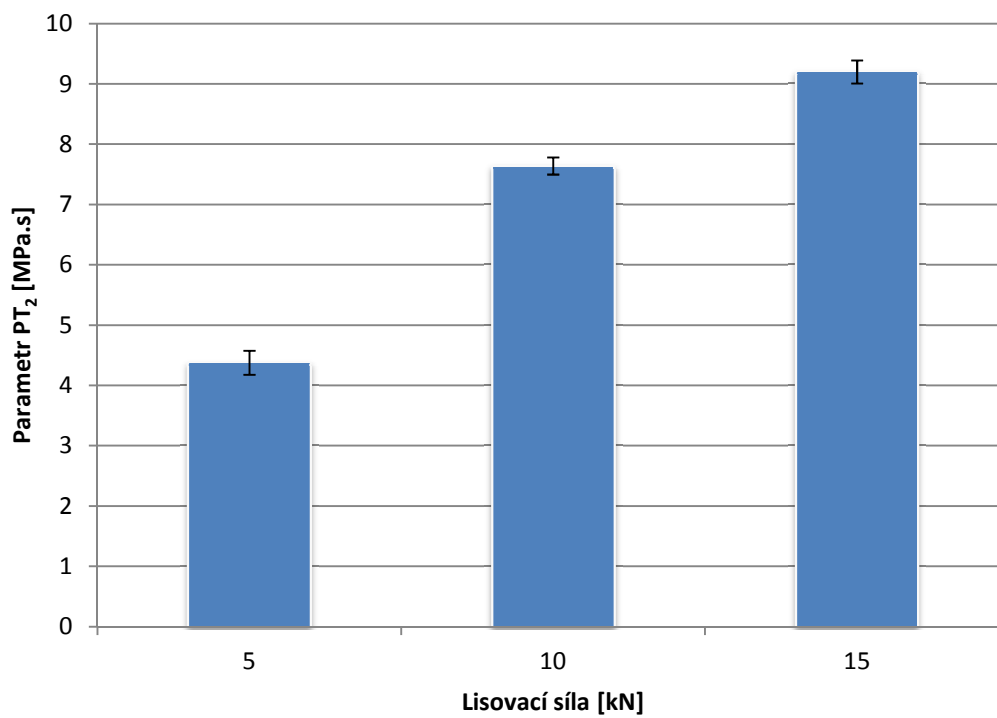
Graf 1: Závislost parametrů A testu stresové relaxace na lisovací síle



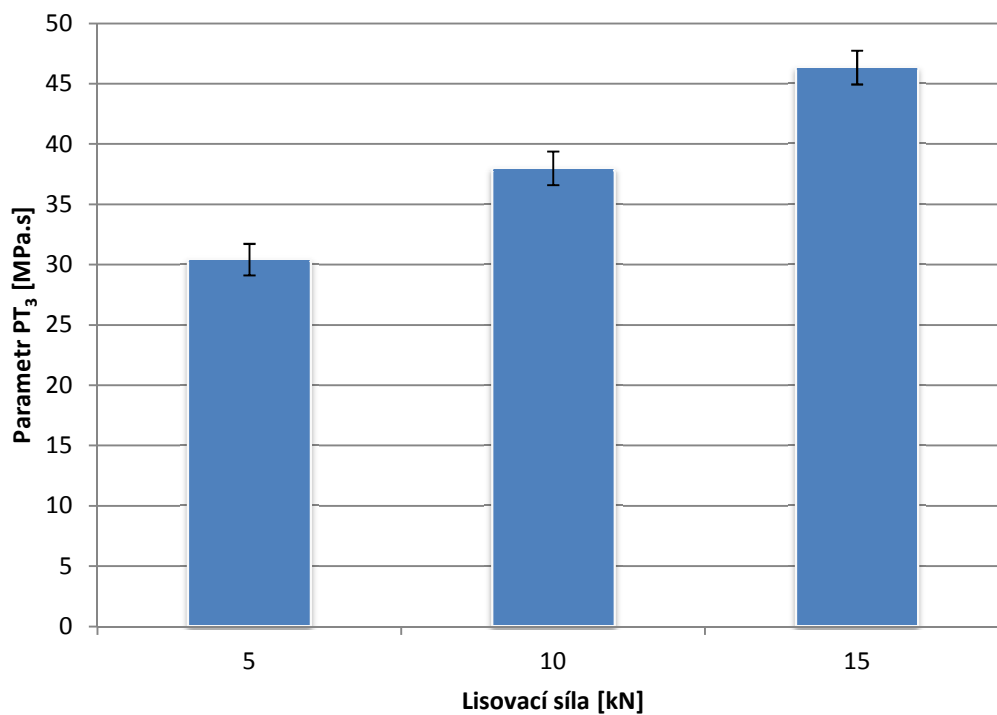
Graf 2: Závislost parametru PT_1 testu stresové relaxace na lisovací síle



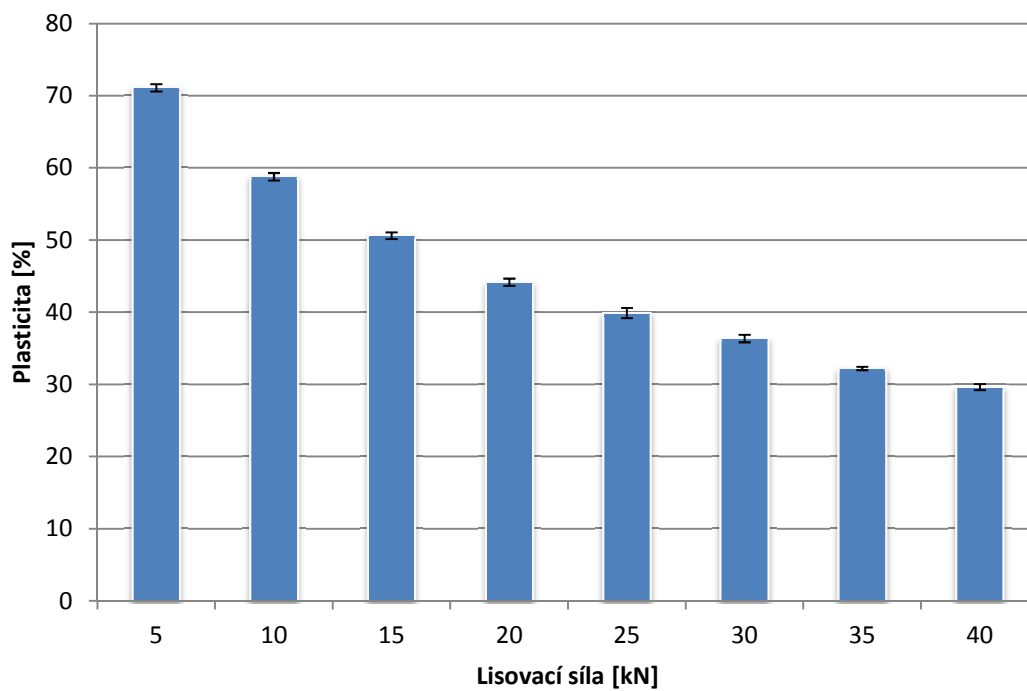
Graf 3: Závislost parametru PT_2 testu stresové relaxace na lisovací síle



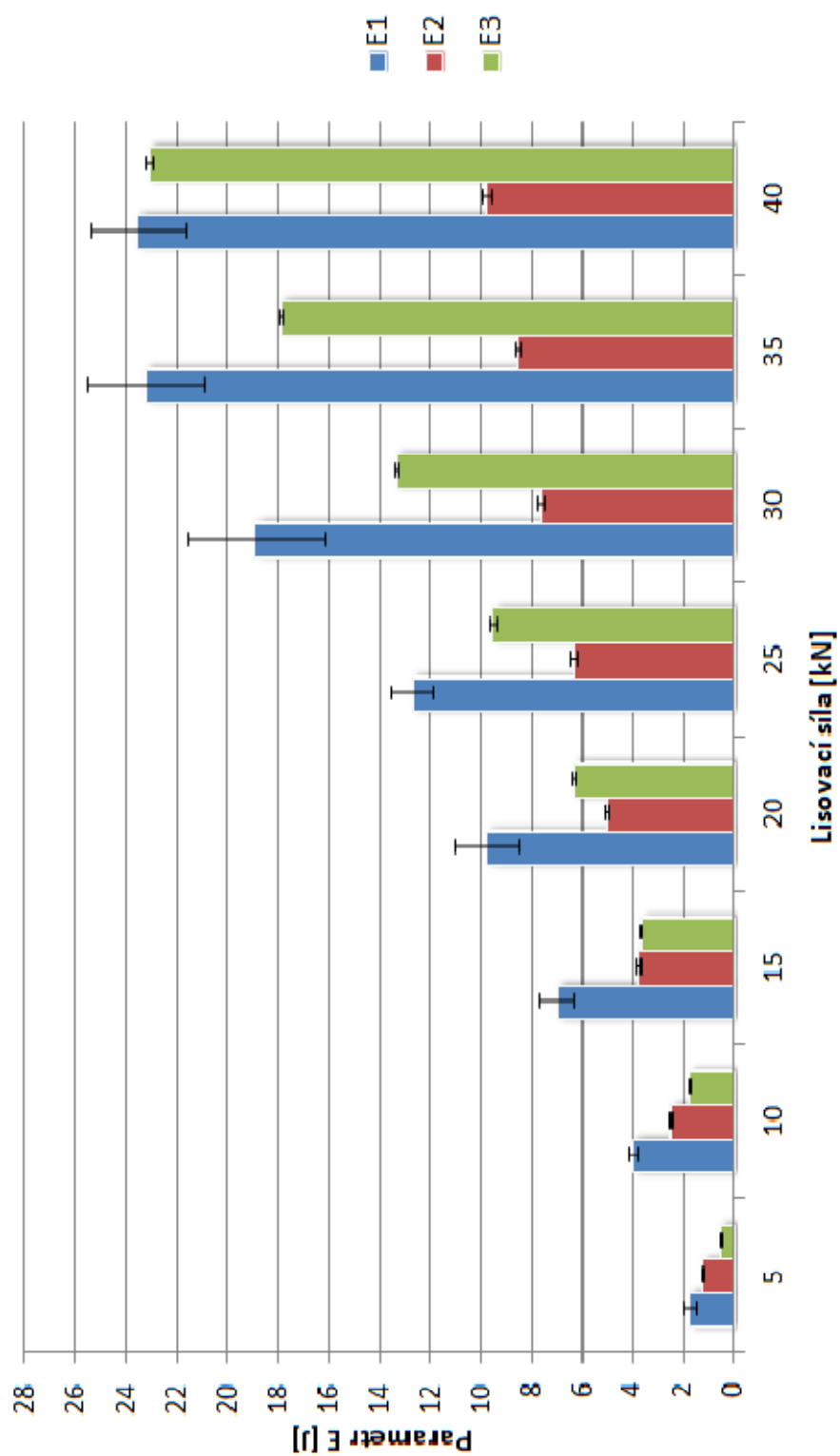
Graf 4: Závislost parametru PT_3 testu stresové relaxace na lisovací síle



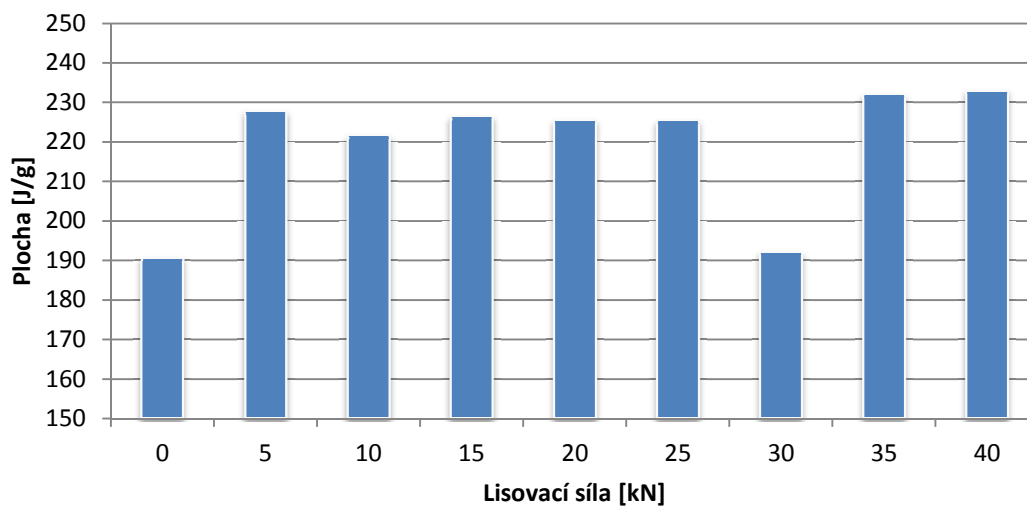
Graf 5: Závislost plasticity Pl na lisovací síle



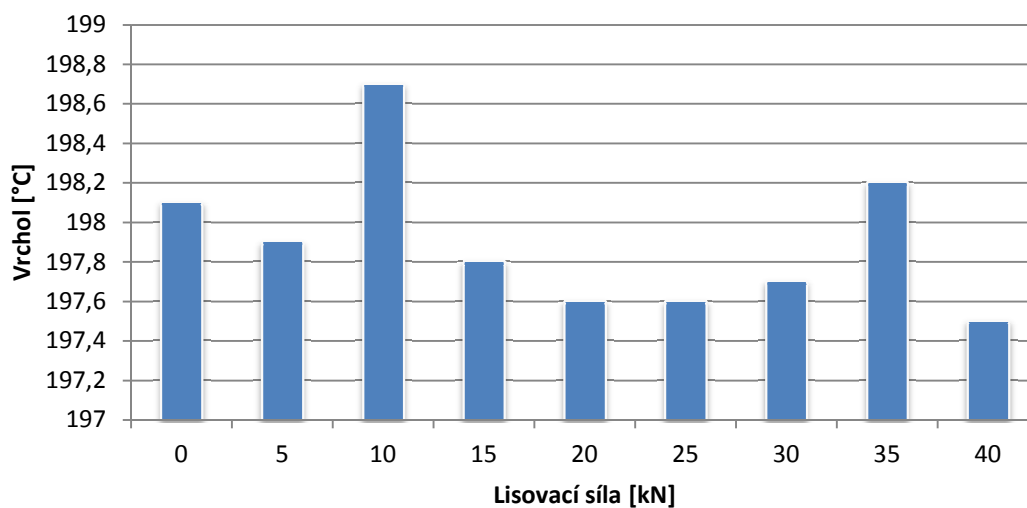
Graf 6: Závislost parametrů E na lisovací síle



Graf 7: Závislost plochy píku na lisovací síle z hodnocení pomocí metody DSC

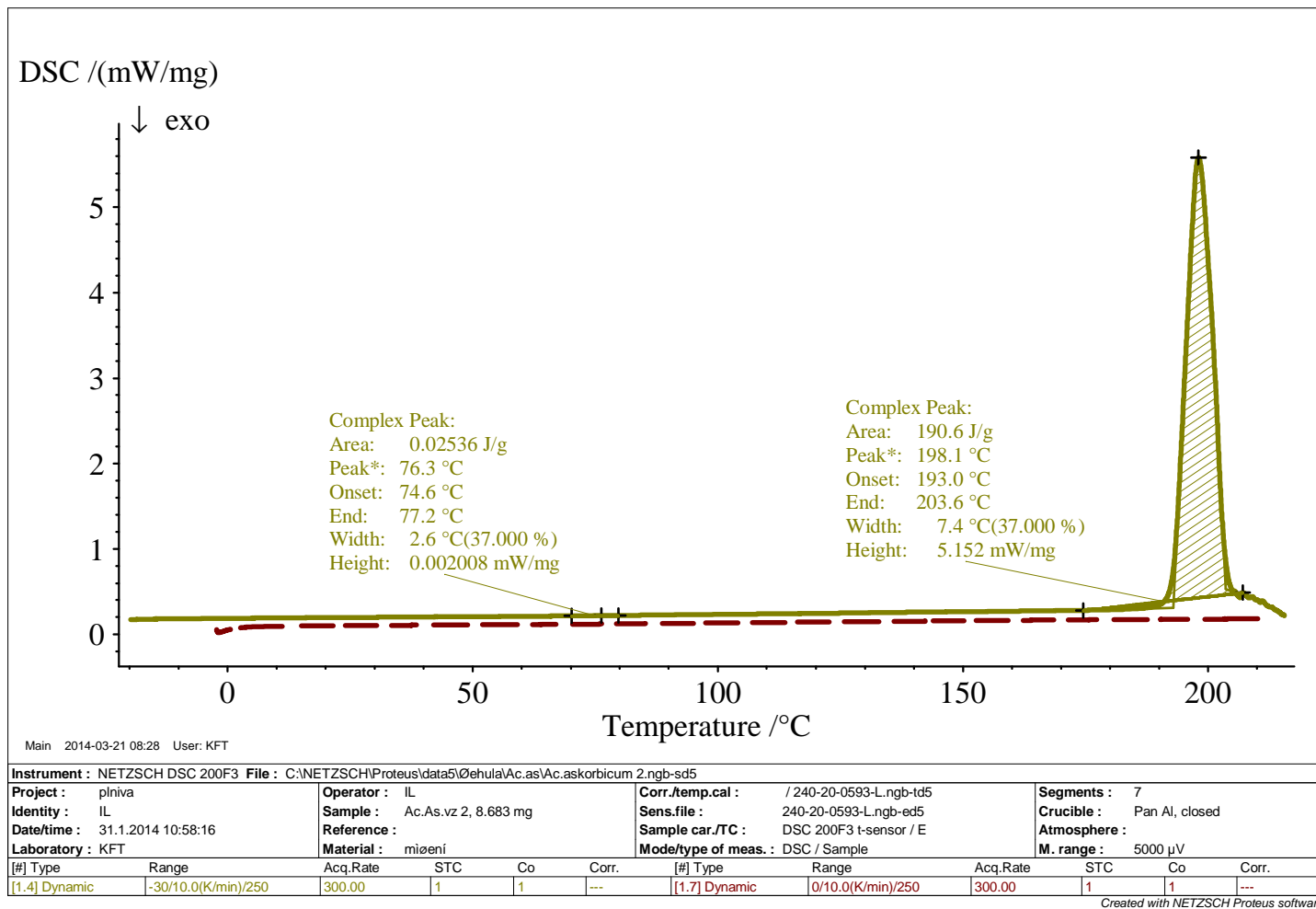


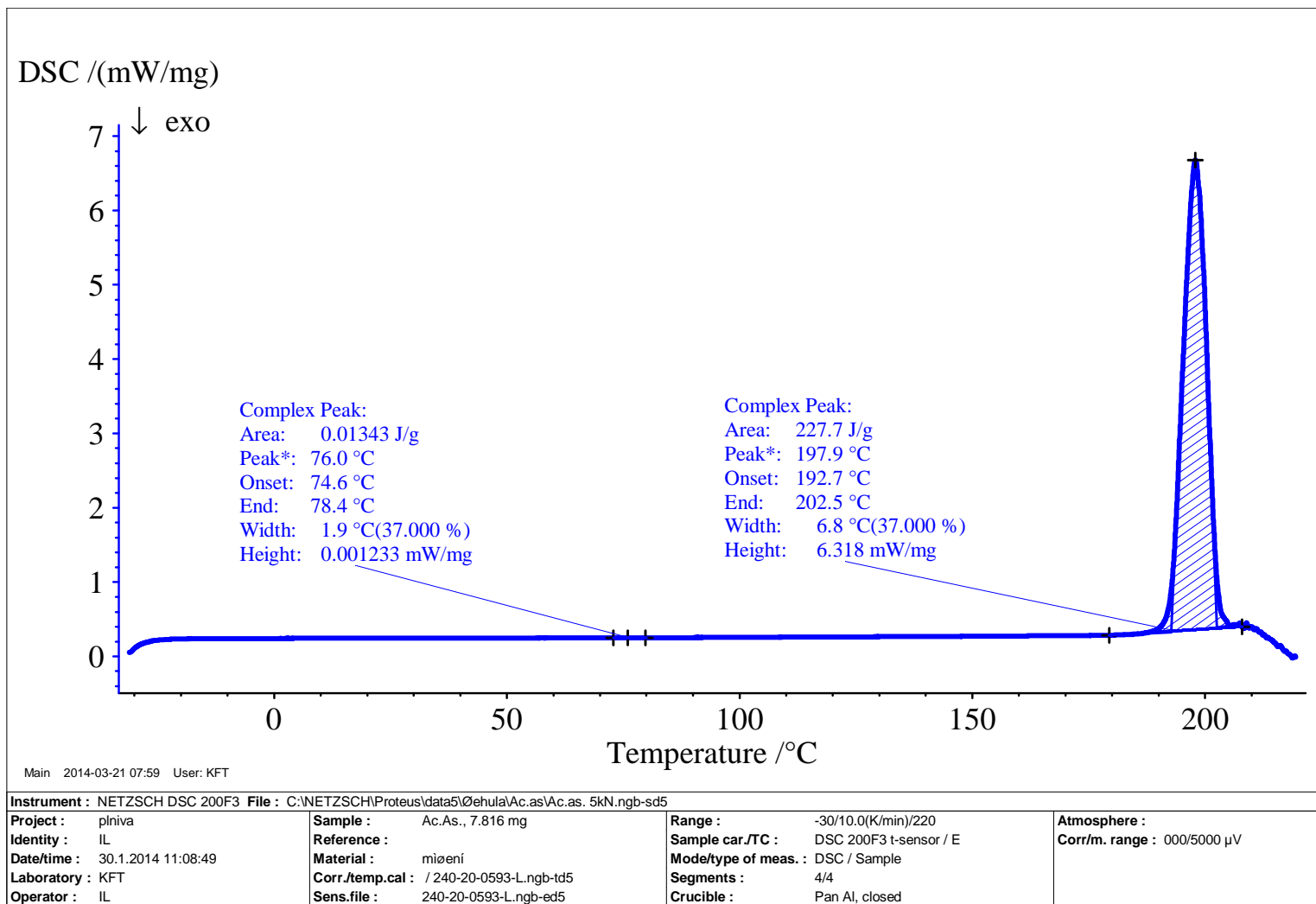
Graf 8: Závislost vrcholu píku na lisovací síle z hodnocení pomocí metody DSC

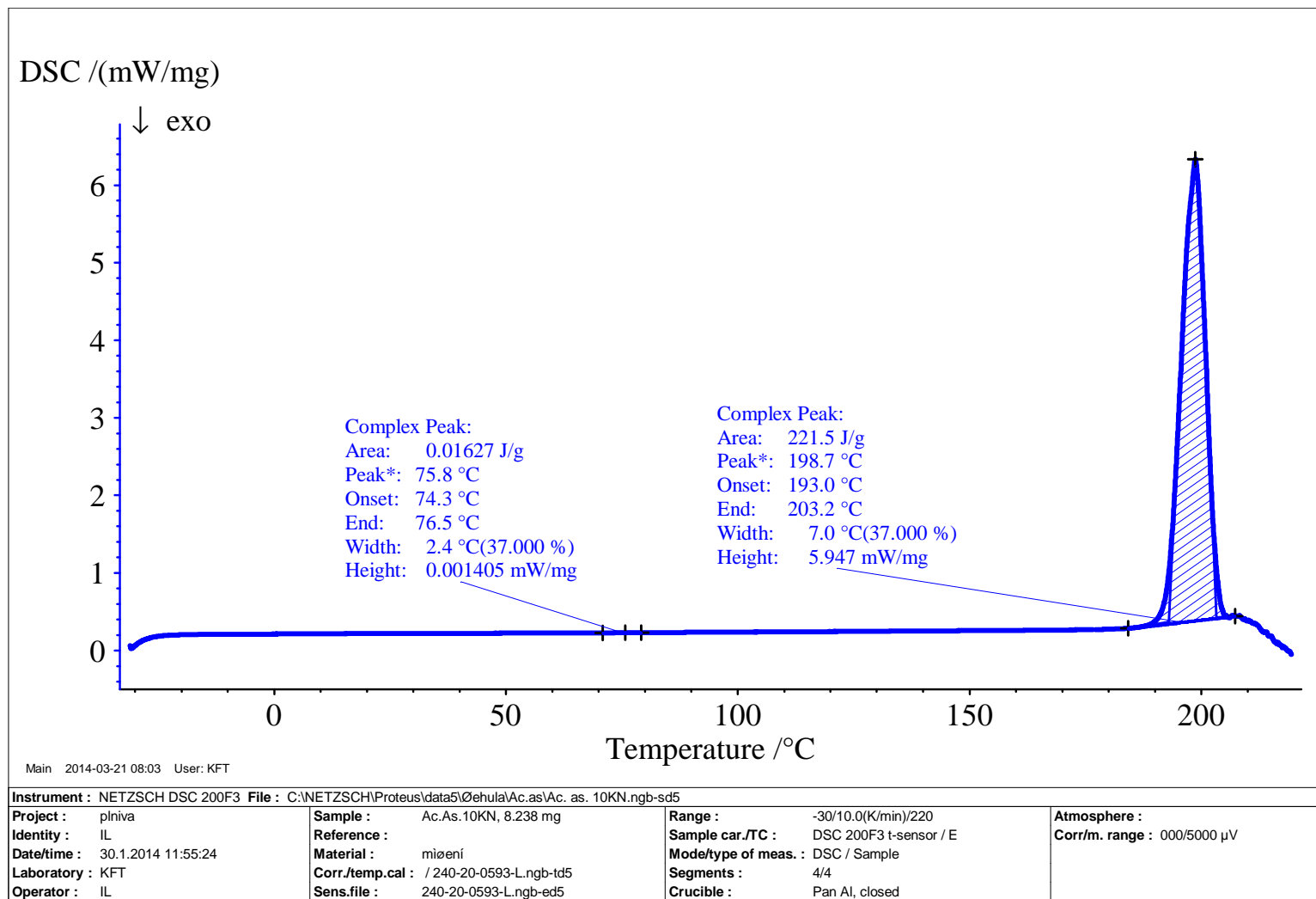


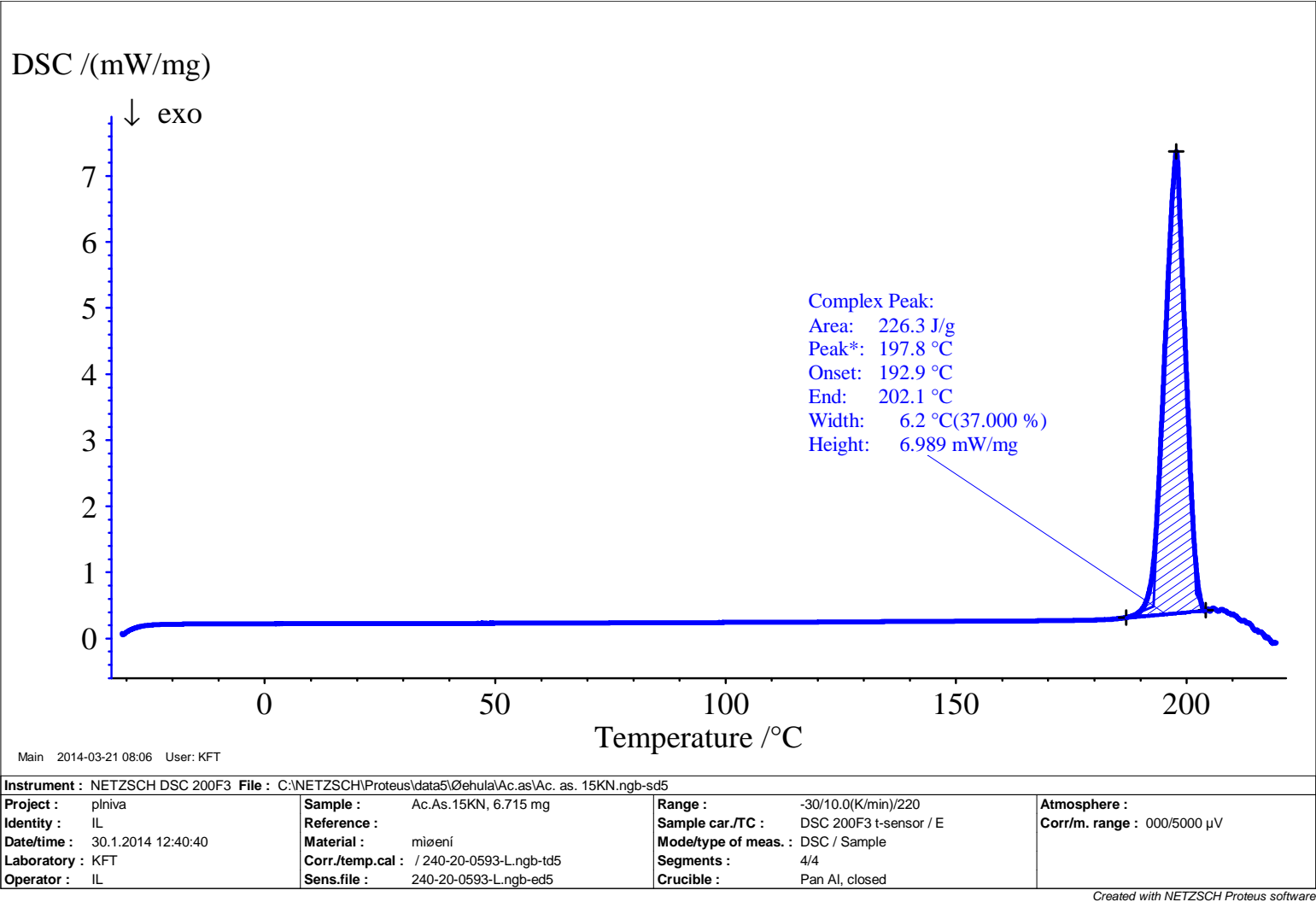
7.4 Protokoly

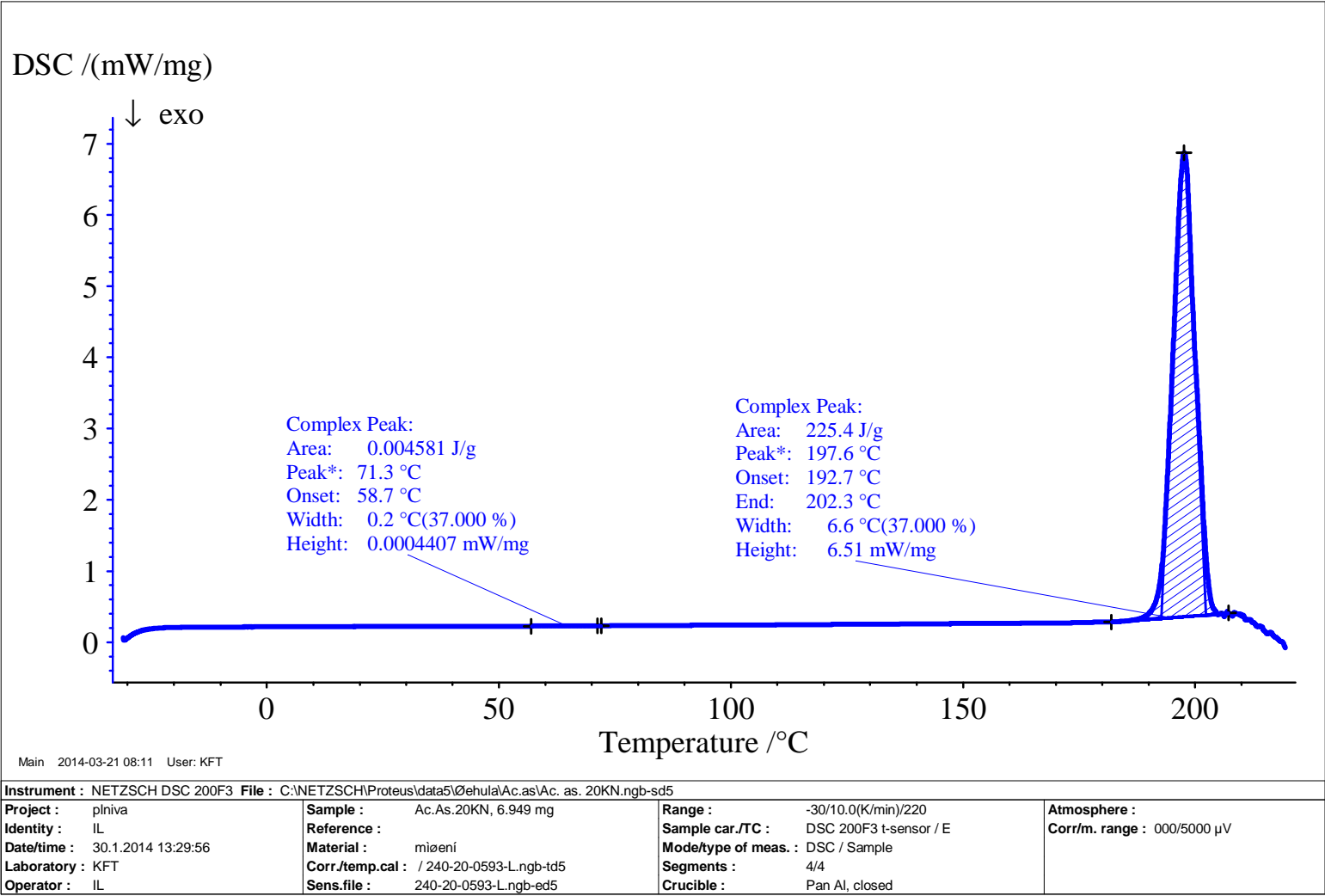
Protokol 1: DSC záznam kyseliny askorbové nelisované

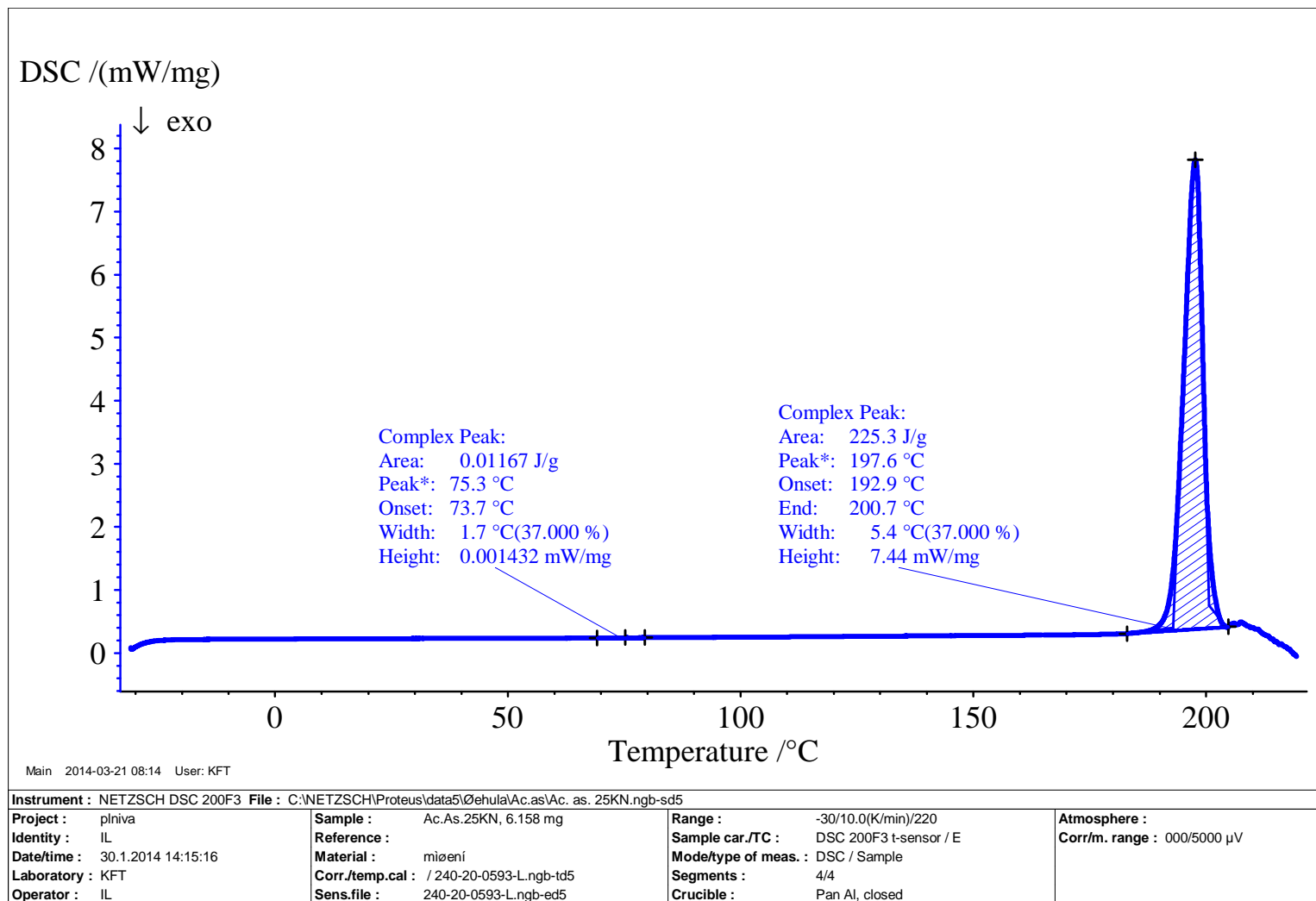


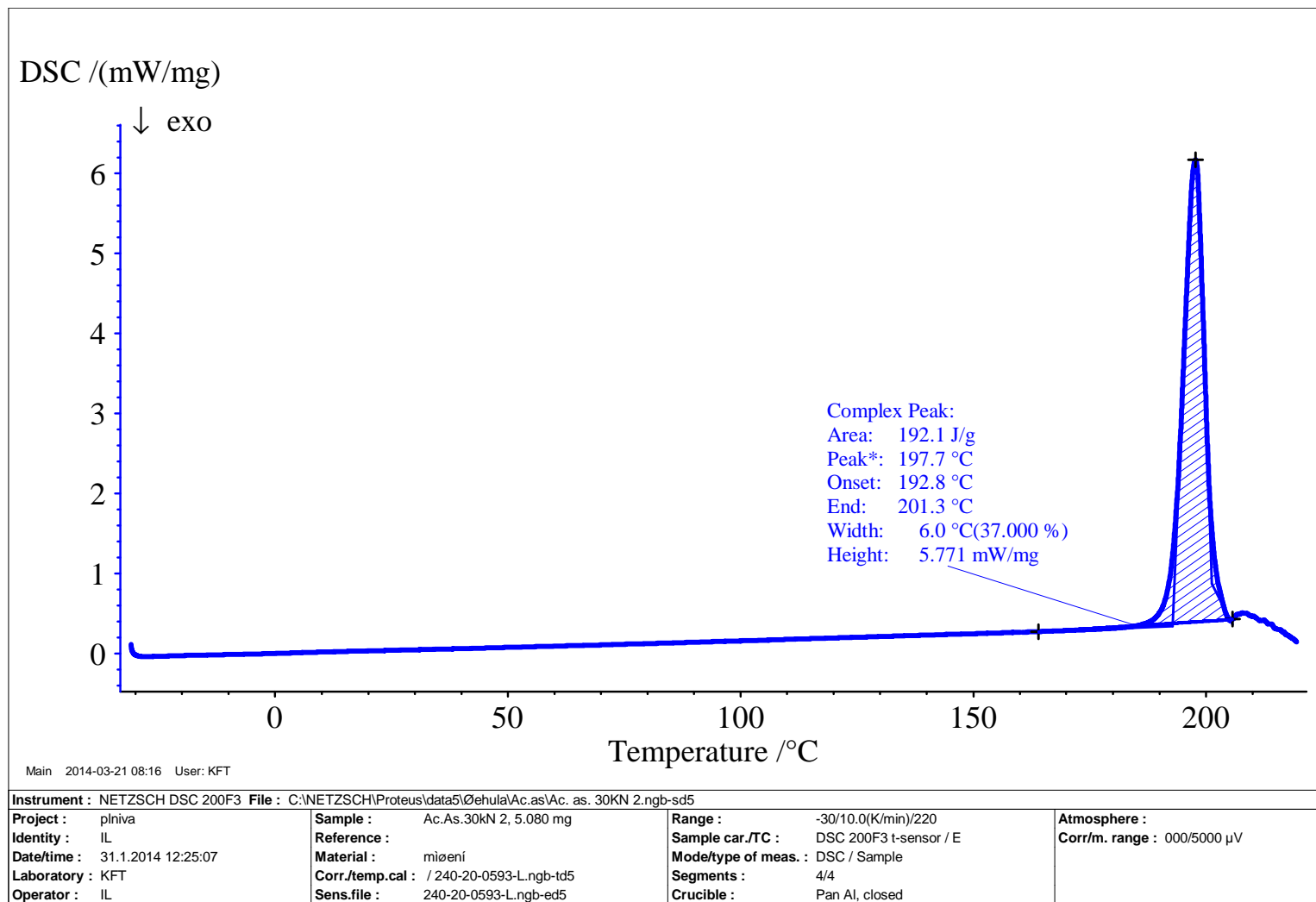


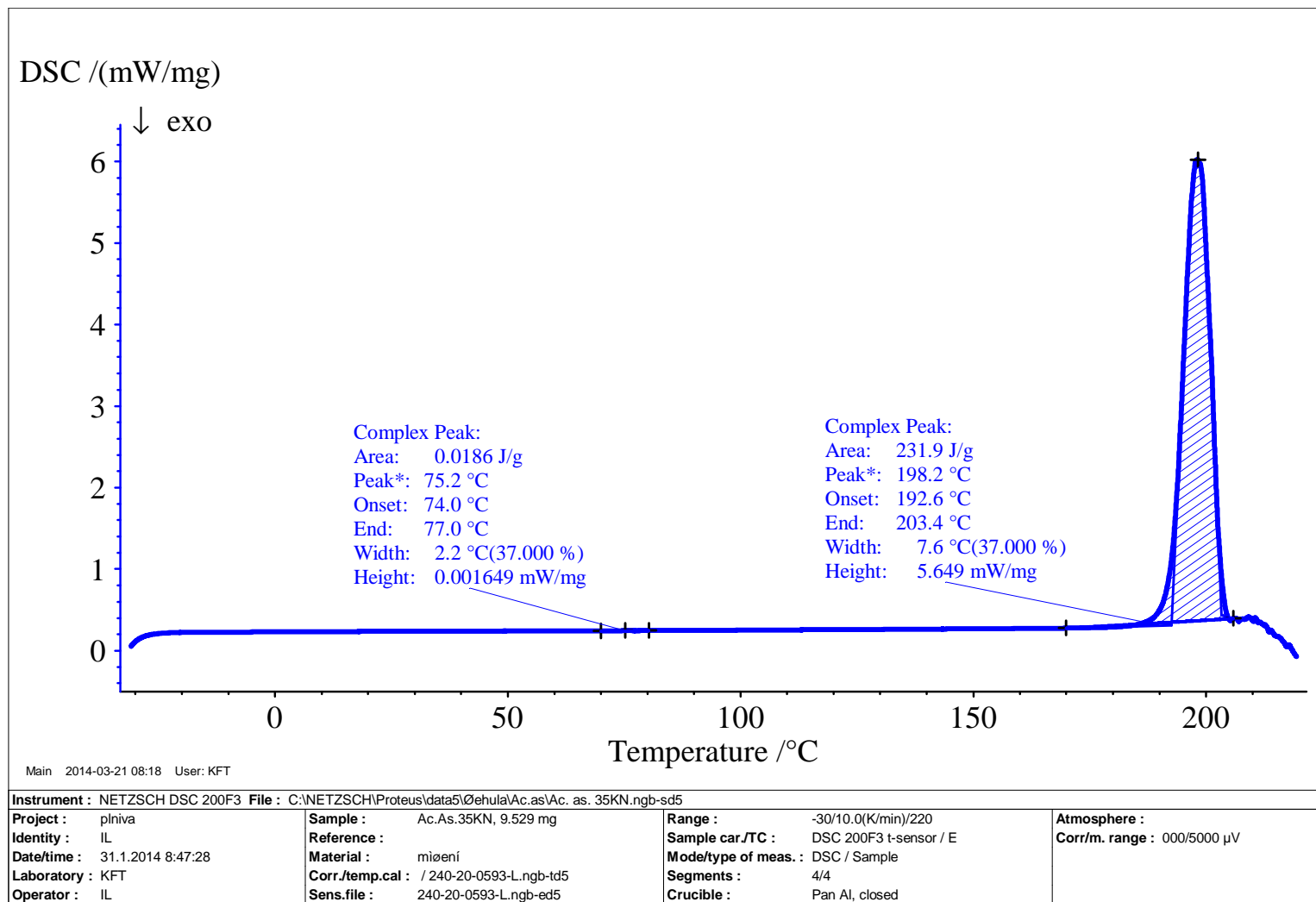


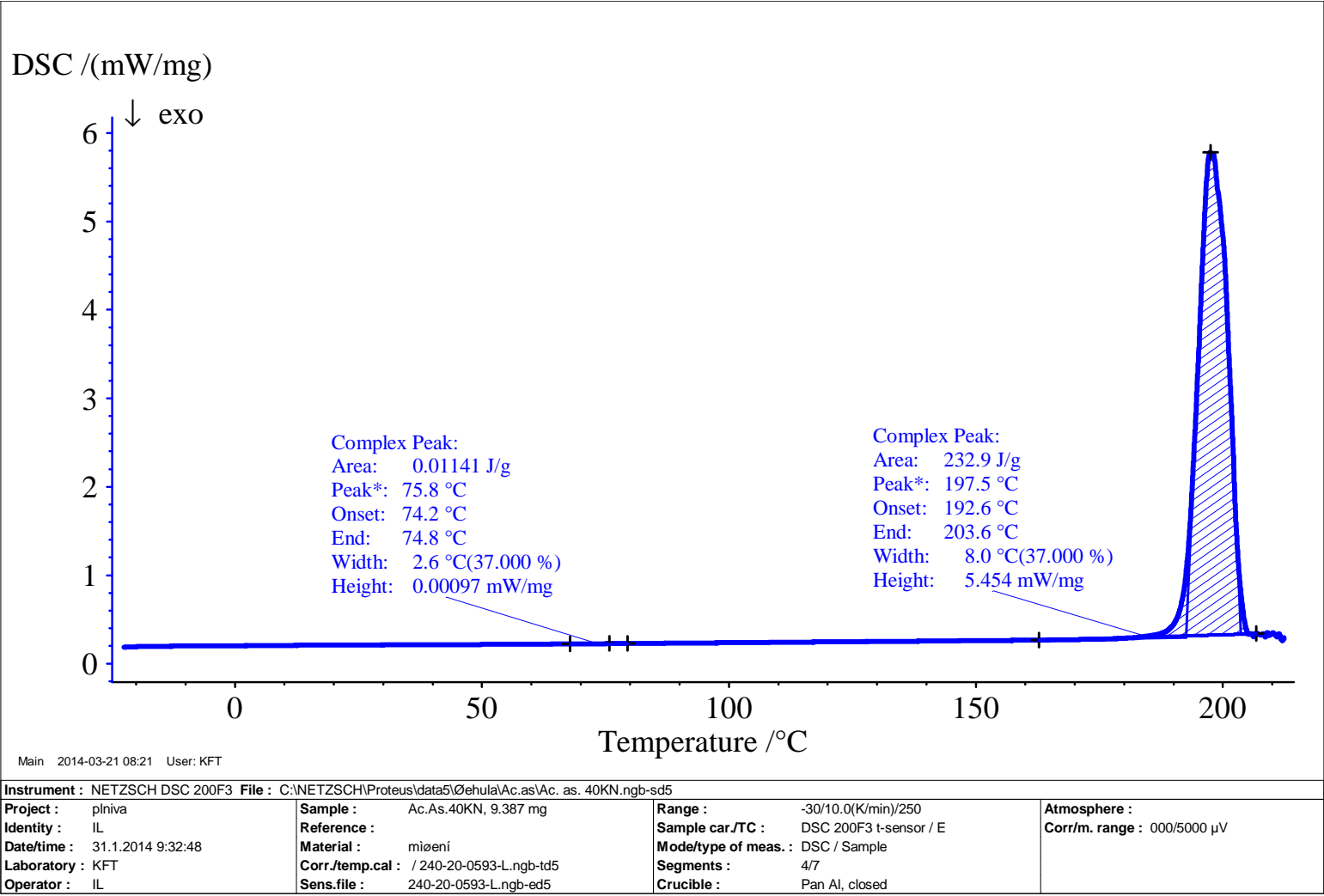












Protokol 10: Příklad protokolu síla-dráha 20 kN (1. strana)



Protokol

28.01.2014

Zk. parametry:

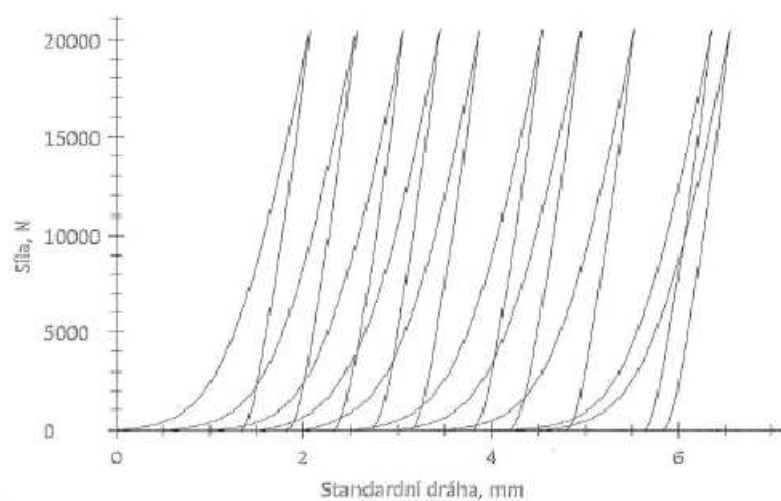
Zákazník : Záznam síla-dráha
Zkoušel(a) : Ledvinová Ivana

Materiál : AA 20 kN
Zkušební systém: Řízení Výrobní číslo: 156573
Příkoník Výrobní číslo: 166573
Síla Výrobní číslo: 156574 50 kN

Výsledky:

| Nr | Fmax. N | E1 Nm | E2 Nm | E3 Nm | Emax Nm | E1s Nm | EP % | PI % | h při Fmax mm | h při odlehčení mm |
|----|------------|----------|----------|----------|------------|-----------|---------|---------|------------------|-----------------------|
| 1 | 20499,35 | 9,891 | 5,045 | 6,392 | 21,33 | 11,44 | 46,37 | 44,11 | 103,99 | 104,74 |
| 2 | 20466,00 | 10,122 | 4,811 | 6,245 | 21,18 | 11,06 | 47,80 | 43,51 | 103,99 | 104,74 |
| 3 | 20497,63 | 9,952 | 4,926 | 6,283 | 21,16 | 11,21 | 47,03 | 43,95 | 103,99 | 104,74 |
| 4 | 20520,80 | 8,781 | 5,034 | 6,262 | 20,08 | 11,30 | 43,74 | 44,56 | 104,01 | 104,76 |
| 5 | 20496,49 | 8,010 | 4,949 | 6,315 | 19,27 | 11,26 | 41,56 | 43,94 | 104,01 | 104,75 |
| 6 | 20522,16 | 9,715 | 4,990 | 6,353 | 21,06 | 11,34 | 46,14 | 43,99 | 103,99 | 104,74 |
| 7 | 20472,04 | 8,761 | 4,951 | 6,388 | 20,10 | 11,34 | 43,59 | 43,66 | 103,99 | 104,78 |
| 8 | 20529,89 | 9,653 | 4,996 | 6,234 | 20,88 | 11,23 | 46,22 | 44,49 | 103,98 | 104,72 |
| 9 | 20491,79 | 12,897 | 5,045 | 6,286 | 24,23 | 11,33 | 53,23 | 44,52 | 103,96 | 104,70 |
| 10 | 20494,48 | 9,802 | 5,114 | 6,200 | 21,12 | 11,31 | 46,42 | 45,20 | 103,99 | 104,72 |

Grafické záznamy zkoušek:



strana 1/2

Protokol 11: Příklad protokolu síla-dráha 20 kN (2. strana)



Protokol

28.01.2014

Statistika:

| Série n = 10 | Fmax. N | E1 Nm | E2 Nm | E3 Nm | Emax Nm | Ells Nm | EP % | PI % | h při Fmax mm | h při odlehčení mm |
|-----------------|------------|----------|----------|----------|------------|------------|---------|---------|------------------|-----------------------|
| x | 20499,06 | 9,759 | 4,986 | 6,296 | 21,04 | 11,28 | 46,21 | 44,19 | 103,99 | 104,74 |
| s | 20,72 | 1,294 | 0,083 | 0,065 | 1,30 | 0,10 | 3,11 | 0,50 | 0,01 | 0,02 |
| v | 0,10 | 13,26 | 1,67 | 1,03 | 6,19 | 0,91 | 6,74 | 1,13 | 0,01 | 0,02 |

Protokol 12: Příklad protokolu stresové relaxace 5 kN (1. strana)



Protokol

29.01.2014

Zk. parametry:

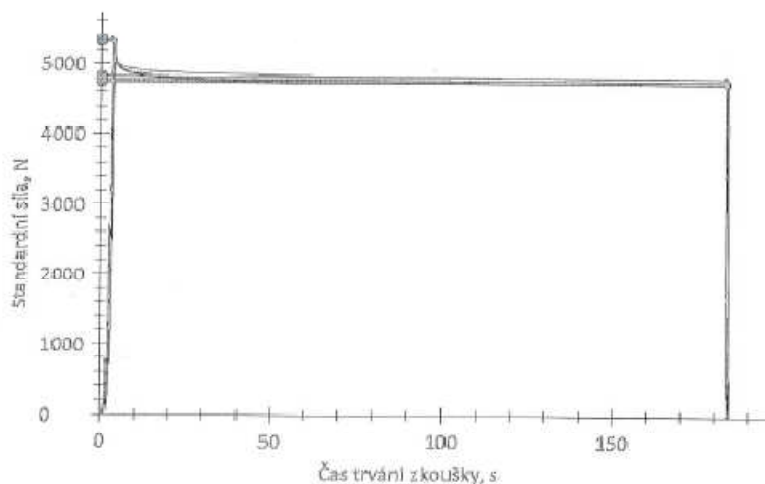
Zákazník : Stresová relaxace
Zkoušel(a) : Ledvínová Ivana

Materiál : AA 5 kN
Zkušební systém: Řízení Výrobní číslo: 156573
Příčnik Výrobní číslo: 156573
Síla Výrobní číslo: 156574 50 kN

Výsledky:

| Nr | F max N | E 1 Nm | E 2 Nm | E 3 Nm | E max Nm | E lis Nm | h při Fmax mm | h při odlehčení mm | F po 180s N |
|----|------------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|------------------|-----------------------|----------------|
| 1 | 5349,29 | 1,731 | 1,394 | 0,454 | 3,58 | 1,85 | 2,51 | 2,75 | 4820,92 |
| 2 | 5334,99 | 2,017 | 1,433 | 0,433 | 3,88 | 1,87 | 2,56 | 2,81 | 4768,30 |
| 3 | 5335,55 | 1,992 | 1,428 | 0,439 | 3,86 | 1,87 | 2,53 | 2,78 | 4757,12 |
| 4 | 5336,69 | 1,344 | 1,411 | 0,444 | 3,20 | 1,86 | 2,53 | 2,77 | 4754,10 |
| 5 | 5329,98 | 1,393 | 1,385 | 0,447 | 3,23 | 1,83 | 2,54 | 2,79 | 4770,90 |
| 6 | 5317,55 | 1,690 | 1,409 | 0,428 | 3,53 | 1,84 | 2,55 | 2,80 | 4742,63 |
| 7 | 5317,07 | 1,785 | 1,409 | 0,433 | 3,63 | 1,84 | 2,57 | 2,82 | 4757,38 |
| 8 | 5323,42 | 1,819 | 1,412 | 0,432 | 3,66 | 1,84 | 2,55 | 2,79 | 4763,26 |
| 9 | 5315,99 | 1,725 | 1,408 | 0,426 | 3,56 | 1,83 | 2,56 | 2,81 | 4752,44 |
| 10 | 5315,65 | 1,437 | 1,392 | 0,463 | 3,29 | 1,86 | 2,54 | 2,79 | 4737,22 |

Grafické záznamy zkoušek:



Protokol 13: Příklad protokolu stresové relaxace 5 kN (2. strana)



Protokol

29.01.2014

Statistika:

| Série n = 10 | F max N | E 1 Nm | E 2 Nm | E 3 Nm | E max Nm | E lis Nm | h při Fmax mm | h při odlehčení mm | F po 180s N |
|-----------------|------------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|------------------|-----------------------|----------------|
| x | 5327,62 | 1,693 | 1,408 | 0,440 | 3,54 | 1,85 | 2,54 | 2,79 | 4762,43 |
| s | 11,47 | 0,235 | 0,015 | 0,012 | 0,24 | 0,01 | 0,02 | 0,02 | 23,04 |
| v | 0,22 | 13,90 | 1,06 | 2,73 | 6,79 | 0,68 | 0,66 | 0,67 | 0,48 |

strana 2/2

8 DISKUSE

8.1 *Hodnocení parametrů testu stresové relaxace*

Testování kyseliny askorbové touto metodou probíhalo při lisovacích silách 5, 10, 15 kN. Výsledky tohoto měření jsou uvedeny v tabulkách 1-3 a grafech 1-4.

Během testu stresové relaxace se hodnotí 3 typy interakcí mezi částicemi. Jsou to interakce mezi elasticky deformovanými a nedeformovanými částicemi – A_1 , mezi elasticky a plasticky deformovanými částicemi – A_2 a mezi elasticky deformovanými částicemi navzájem – A_3 . S rostoucí lisovací silou se hodnota parametrů A_1 , A_2 , A_3 zvyšuje. A_1 je charakterizováno hodnotami od 2,096 MPa do 3,192 MPa. A_2 má hodnoty od 1,389 MPa do 2,506 MPa. A_3 dosáhlo hodnot od 0,675 MPa do 1,247 MPa.

Hodnoty parametrů PT_1 , PT_2 , PT_3 , označující plasticitu, se vlivem vrůstající lisovací síly zvyšují. PT_1 nabývá hodnot od 0,511 MPa.s do 1,128 MPa.s. PT_2 charakterizují hodnoty od 4,378 MPa.s do 9,201 MPa.s. PT_3 dosahuje hodnot od 30,422 MPa.s do 46,339 MPa.s.

S rostoucí lisovací silou tedy dochází k většímu působení elasticky deformovaných částic na ostatní částice v systému a na sebe navzájem. Důsledkem toho je i vyšší plasticita. Částice jsou díky vyšší síle blíže u sebe, zvyšuje se tak plocha kontaktu a mohou vznikat nové vazby nebo se dotvářet již vzniklá plasticita. Hodnoty parametrů jsou ale relativně nízké, což je pravděpodobně způsobeno tím, že mezi částicemi nevznikají pevné vazby, ale pouze slabé interakce a dochází zřejmě také k fragmentaci částic během lisování, protože je kyselina askorbová považována za křehký materiál.²⁹

8.2 *Hodnocení parametrů metody síla – dráha*

Parametry z tohoto měření nám vyjadřují lisovací proces ve fázi komprese i relaxace tablety. Pro tuto metodu byly lisovány tablety při lisovacích silách 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 a 40 kN. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 4 a grafech 5 a 6.

Parametr E_1 vyjadřuje energii spotřebovanou na tření mezi částicemi navzájem a mezi částicemi a stěnami matrice. S rostoucí lisovací silou se energie E_1 zvyšuje. Při lisovací síle 5 kN je hodnota parametru E_1 1,72 J a při 40 kN 23,59 J. S rostoucí lisovací silou dochází zřejmě k většímu tření mezi částicemi navzájem nebo částicemi a stěnou matrice.

Parametr E_2 znázorňuje energii, která zůstane v tabletě po vylisování. Tato energie je energií plastickou. Se zvyšující se lisovací silou energie E_2 roste. Při lisovací síle 5 kN je hodnota E_2 1,25 J a při 40 kN 9,75 J. Působením vyšší lisovací síly se v tabletě akumuluje vyšší množství plastické energie, která je využita především na zpevnění struktury a tvorbu případných vazeb mezi částicemi.³⁰

Parametr E_3 představuje energii, která se z tablety uvolní po relaxaci. Se stoupající lisovací silou se energie E_3 zvyšuje. Při lisovací síle 5 kN je hodnota E_3 0,51 J a při 40 kN 23,14 J. S rostoucí lisovací silou se tedy v tabletě také akumuluje vyšší množství elastické energie, která po ukončení lisovacího procesu uvolňuje.

Parametr E_{lis} označuje energii, která se spotřebuje na tvorbu tablety. Představuje součet hodnot E_2 a E_3 . Se stoupající lisovací silou energie E_{lis} vzrůstá. Při lisovací síle 5 kN je hodnota E_{lis} 1,78 J a při 40 kN 32,89 J. Tento nárůst je dán zvýšením jednotlivých hodnot u parametrů E_2 a E_3 .

Plasticita Pl se s nárůstem lisovací síly snižuje. Při lisovací síle 5 kN je její hodnota 71,13 % a při 40 kN je hodnota 29,65 %, což představuje přibližně polovinu původní hodnoty. Plasticita vyjadřuje podíl energie E_2 a energie spotřebované na tvorbu tablety E_{lis} . Pokles je dán větším množstvím elastické energie, která se uvolní po vylisování tablety. Energie, která zůstává v tabletě po vylisování, potom zaujímá menší podíl.

8.3 Hodnocení kyseliny askorbové metodou DSC

Pomocí metody DSC byla hodnocena samotná kyselina askorbová a tablety zhotovené lisovací silou 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 kN, které byly připraveny metodou síla-dráha. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5 a grafu 7 a 8.

Na termogramu samotné, nelisované kyseliny askorbové byl zjištěn hlavní pík s maximem teploty tání $198,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ s plochou píku $190,6\text{ J/g}$. Při teplotě $76,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl objeven malý pík, který pravděpodobně znázorňuje nečistotu.

Z termogramů vylisovaných tablet kyseliny askorbové vyplynulo, že maxima teplot tání se pohybují od $197,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $198,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a jsou znázorněny v grafu 1. Pík, který by znázorňoval jinou modifikaci kyseliny askorbové, nebyl objeven. Můžeme tedy předpokládat, že lisovací proces nemá vliv na změnu struktury. Graf 2 znázorňuje plochy píku, které jsou u lisovaných tablet o něco větší než u čisté látky. Plochy píků se pohybují v rozmezí $221,5 - 232,9\text{ J/g}$. Výjimkou je pík při lisovací síle 30 kN , který má hodnotu $192,1\text{ J/g}$. Tato hodnota je přibližně stejná jako u čisté látky.

9 ZÁVĚRY

9.1 *Hodnocení kyseliny askorbové testem stresové relaxace*

Při hodnocení výsledků sledovaných parametrů bylo zjištěno, že s rostoucí lisovací silou se hodnota A_1 , A_2 , A_3 zvyšuje. Hodnoty parametrů P_1 , P_2 , P_3 také vlivem zvyšující lisovací síly rostou.

9.2 *Hodnocení kyseliny askorbové ze záznamu síla-dráha*

Energie E_1 , E_2 , E_3 , E_{lis} se vrůstající lisovací silou rostou. Během hodnocení bylo zjištěno, že parametr E_2 roste lineárně. Při lisovací síle 40 kN mají energie E_1 a E_3 téměř stejnou hodnotu. Hodnota energie E_1 je 23,59 J, hodnota energie E_3 dosahuje 23,14 J. Plasticita klesá se zvyšující se lisovací silou.

9.3 *Hodnocení kyseliny askorbové metodou DSC*

Cílem tohoto hodnocení bylo zjistit možnost rozkladu kyseliny askorbové, jelikož během lisování je léčivá látka vystavena vysokému lisovacímu tlaku a vyšší teplotě. Působením těchto faktorů nedošlo k rozkladu léčivé látky ani ke změně její struktury.

10 POUŽITÁ LITERATURA

1. *Vitamin C* (online), 4.10.2006, (31.3.2015, 11. 4. 2015).
http://cs.wikipedia.org/wiki/Vitam%C3%ADn_C-1.
2. Český lékopis 2009-Doplněk 2013., 2013. Praha: Grada Publishing a.s., 4354 s., ISBN 978-80-247-4679.
3. JOPP, A.: *Vitaminy a stopové prvky pro zdraví*, 2014. Praha: Eminent, 223 s., ISBN 978-80-7281-489-3.
4. *Použití v potravinářském průmyslu* (online), (29.4.2015)
<http://www.ped.muni.cz/wchem/comenius2000/vitaminc/pouziti.htm>
5. *Vitamín C* (online), (29.4.2015)
<http://www.ingredientsofstyle.com/2013/06/ingredient-of-week-vitamin-c.html>
6. VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 2*, 1999. Tábor: OSSIS, 304 s., ISBN 80-902-3912-9.
7. DROUIN, G., GORDIN, J-R., PAGÉ, B.: The Genetics of Vitamin C Loss in Vertebrates, *Current Genomics*, 2011, 12, s. 371-378. ISSN 1875-5488.
8. MACHÁČEK, T.: *Proč žraloci nemusí jíst pomeranče* (online), 20.1.2013, (5.4.2015). <http://www.biomach.cz/oznameni/procnemusizralocijistpomerance>
9. HAMPL, F., PALEČEK, J.: *Farmakochemie*, 2002. Praha: VŠCHT v Praze, 413 s., ISBN 80-708-0495-5.
10. NOVÁKOVÁ, L., SOLICH, P., SOLICHOVÁ, D.: HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27 (10), s. 942-958. ISSN 0165-9936.
11. VÁVROVÁ, J., WILHELM, Z.: *Vitamín C: metabolické funkce* (online), 3.1.2011, (12.4.2015). <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/A/JVATC.htm>

-
12. *Databáze léků Státního ústavu pro kontrolu léčiv ČR*, (online), (5.4.2015).
<http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>
 13. *AIPLP* verze 2015.1 stav k 1.1.2015
 14. MANDL, J., SZARKA, A., BÁNHEGYI, G.: Vitamin C: update on physiology and pharmacology. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 157 (7), s. 1097–1110. ISSN 1476-5381.
 15. NAIDU, A. K.: Vitamin C in human health and disease is still mystery. *Nutrition journal*, 2003, 2 (7). ISSN 1475-2891.
 16. WILLIAMS, R.: *Vitamin C and Collagen* (online) , (14.4.2015).
<http://www.vitamincfoundation.org/collagen.html>
 17. *Vitamín C* (online) (14.4.2015). <http://potravinove-doplňky-databaze.doktorka.cz/vitaminy/vitamin-c>
 18. PLÁTENÍK, J.: Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. *Interní medicína pro praxi*, 2009, 11 (1), s. 30-33. ISSN 1803-5256.
 19. GINTER, E.: *Chronic vitamin C deficiency increases the risk of cardiovascular diseases*. *Bratislavské Lekárske Listy*, 2007; 108 (9), s. 417-421. ISSN 1336-0345.
 20. SEILEROVÁ, L., BRUSOVÁ, H., KRATOCHVÍL, B., KREJČÍK, L.: Využití metod termické analýzy ve výzkumu a vývoji léčiv. *Chem. listy*, 2012, 106, s. 890 – 895. ISSN 1213-7103.
 21. ŠTARHA, P., TRÁVNÍČEK, Z.: *Termická analýza*, 2011. Olomouc: Univerzita Olomouc, 64 s.
 22. VANÍČEK, J.: *Metody termické analýzy*. *TU Liberec*, 2006 (přednáška)

-
23. BROWN, M. E.: *Handbook of thermal analysis and calorimetry*, 1998. Amsterdam: Elsevier science, 691 s., ISBN 0-444-82085-X.
24. NUNES, J. F. de L., MELO, D. M. de A., MOURA M. de F. V., FARIAS, R. F., Thermogravimetry and differential scanning calorimetry as useful techniques to quality control in pharmaceutic industries: Ascorbic acid tablets analysis. *Rev. Bras. Farm.*, 2004, 85 (3), s. 111-113. ISSN 2176-0667.
25. JINGYAN, S., YUWEN, L., ZHIYONG, W. CUNXIN, W.: Investigation of thermal decomposition of ascorbic acid by TG-FTIR and thermalkinetics analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, 77, s. 116–119. ISSN 0731-7085.
26. TIAN, X. L., TIAN D. F., WANG Z. Y., MO F.K.: *Synthesis and Evaluation of Chitosan-Vitamin C komplex*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009; 71 (4), s. 371-376. ISSN 1998-3743.
27. LIMA, M. W. C., SILVA, E. P, BARROS, I. P., MOURA, M. F. V., NOGUEIRA F. H. A., FERRARI, M., ARAGÃO, C. F. S., GOMES, A. P. B.: Thermal Characterization of Vitamin C used with Raw Material in the Cosmetic Industry,. In: *IX Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria, Serra Negra Brasil, 9.-12.11,2014* (kongres) (online) (29.4.2015). <http://abratec.com.br/cbratec9/trabalhos/196A.pdf>
28. SVAČINOVÁ, P., ŘEHULA, M., ONDREJČEK, P., RABIŠKOVÁ, M.: Porovnání dvou metod charakterizujících proces lisování tablet, *Chem. Listy*, 2014, 108, s. 624-629. ISSN 1213-7103.
29. KAWASHIMA, Y., IMAI, M., TAKEUCHI, H., YAMAMOTO, H., KAMIYA, K.: Development of Agglomerated Crystals of Ascorbic Acid by the Spherical Crystallization Technique for Direct Tableting, and Evaluation of Their Compactibilities, *KONA Powder and Particle Journal*, 2002, 20, s. 251-262. ISSN 0288-4534.

-
- 30.** HVOSLEF, J.: The crystal structure of L-ascorbic acid, vitamin C. I. The X-ray analysis, *Acta Crystallographica*, 1968, B24, s. 23-35. ISSN 0108-7681.